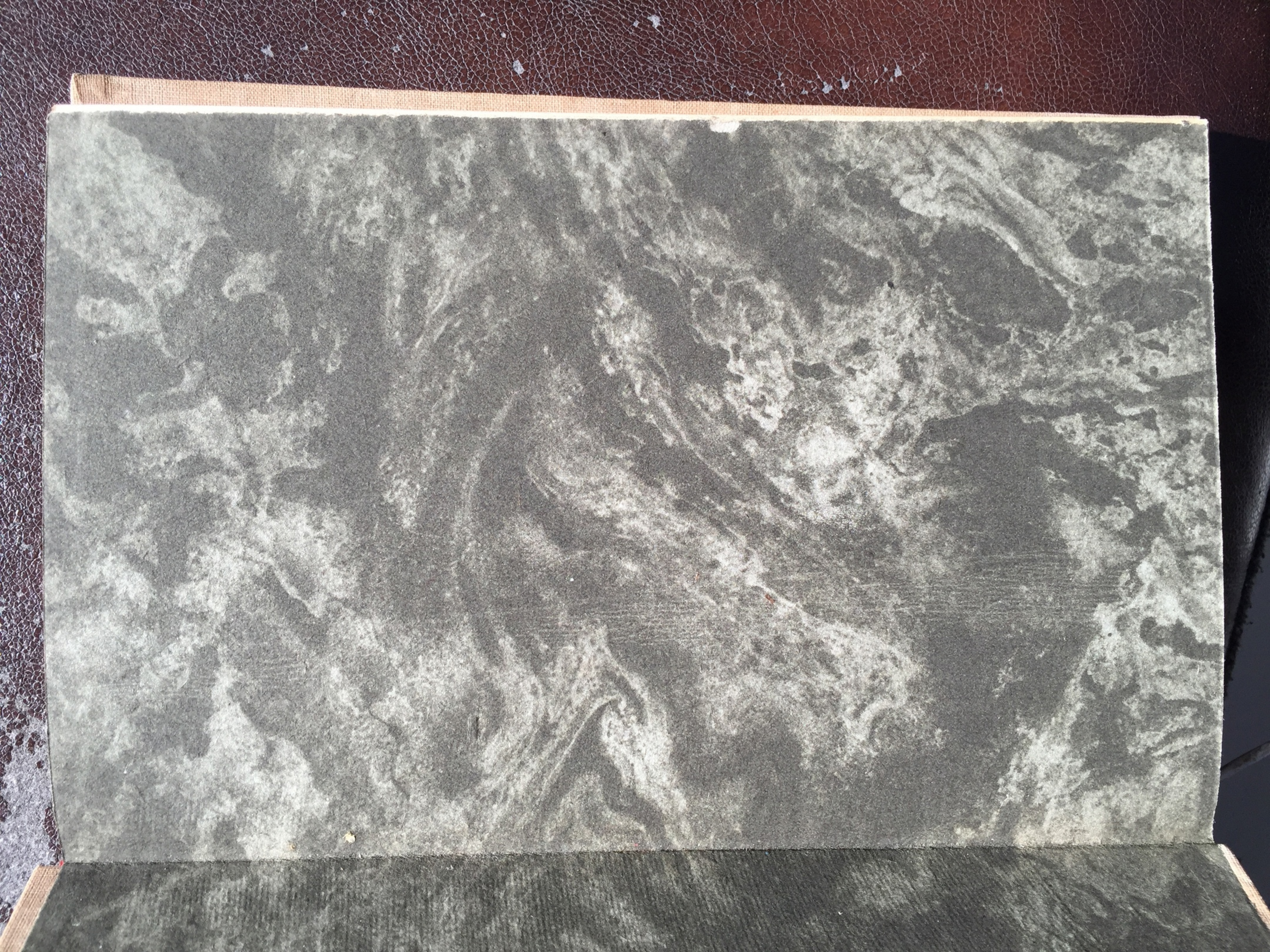
Проф. И. А. РЕМЕЗОВ

ХИМИЯ и БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ ПОЛА

ИЗДАТЕЛЬСТВО ВИЭМ

1936



ХИМИЯ И

ГОРМОН

ИЗД
ВСЕСОЮЗ
ЭКСПЕРИМЕНТ

Проф. И. А. РЕМЕЗОВ

ХИМИЯ и БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ ПОЛА

ИЗДАТЕЛЬСТВО
ВСЕСОЮЗНОГО ИНСТИТУТА
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

АННОТАЦИЯ

МОНОГРАФИЯ — посвящена разбору современного состояния вопроса химии сексуальных гормонов. Огромные успехи в этой области, приведшие к синтезу большинства этих соединений, доказавшие их неоспоримую генетическую связь с животными стеринами, а также ракообразующими веществами и создавшие предпосылки для широкого использования гормонов пола с лечебными целями — позволили изложить весь вопрос в законченном виде. На основе собственных работ автора и его сотрудников по синтезу и физико-химическому изучению половых гормонов весь материал подвергнут также критической оценке, что позволило выдвинуть ряд принципиальных вопросов, подлежащих дальнейшему разрешению исследовательской работой. Для возможности полной оценки всей проблемы, особенно специалистами химиками — предпослана краткая, чисто биологическая сторона вопроса. Книга рассчитана на широкий круг химиков, биохимиков, биологов и врачей.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемая работа, представляя общую сводку работ по химии и биохимии половых гормонов, ставит своей целью ввести исследователя не только в современное состояние вопроса, но указать также ряд положений, вытекающих из последнего, требующих своего дальнейшего изучения и развития. Особый характер предмета, обусловивший как раз комплексность его разработки, заставил предпослать чисто биологическую сторону вопроса, ибо без понимания последней химик не в состоянии охватить проблему целиком. Собственный опыт автора в области химии гормонов пола, а также работы по синтезу последних из животных стеринов, осуществленные в 1934—1935 году его сотрудниками и ныне далее разрабатываемые в Научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте НКТП, позволили внести существенные дополнения и придать изложению обзорного материала критический характер. Любезность д-ра Г. В. Ходецкого позволила дать в приложении общие установки для научно обоснованного лечения чистыми кристаллизатами естественных и синтетических гормонов пола на основании его собственных наблюдений, сделанных при применении препаратов, добытых автором этой монографии. Большую помощь в подборе материала для иллюстраций, а также микрофотограмм, оказала мне моя жена Е. И. Друнзель-Ремезова, которой я здесь приношу свою дружескую, сердечную благодарность.

Июль 1935 года,
Москва.

Автор

Предисловие

ГЛАВА

Эндокринная деятельность женских

1. Краткие анатомические сведения
Женские половые железы . . . .
Мужские половые железы . . .
2. Физиологическая фу
Схема Шеллера . . . . . .
3. Физиологическая фу
ных желез . . . . . .
4. Специфические горм
Женские сексуальные гормоны
Мужские сексуальные гормоны .

ГЛАВА

Химия сексуальных гормонов . . .

Женские сексуальные гормоны . .

1. Фолликулостерон—фо
2. Производные α-фолли
3. Химический генезис
4. Лутеостерон—гормо
5. Производные лутеос
6. Физиологически не
гормона желтого те
низме. . . . . .
7. Химический генезис

Мужские сексуальные гормоны

1. Тестикулостерон—т
2. Производные тести
3. Химический генезис
Генетическая химическая связь
и пути образования гормонов и
Биохимический механизм дейс
вотной организме и связь с сб
Вопросы химической номенкл

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Предисловие . . . 3

ГЛАВА ПЕРВАЯ

Эндокринная деятельность женских и мужских половых желез. . . . 7

1. Краткие анатомические сведения 8
   Женские половые железы 17
   Мужские половые железы 34
2. Физиологическая функция яичников 42
   Схема Шеллера . . . . . —
3. Физиологическая функция мужских половых желез 59
4. Специфические гормоны пола 64
   Женские сексуальные гормоны 65
   Мужские сексуальные гормоны 74

ГЛАВА ВТОРАЯ

Химия сексуальных гормонов 78

Женские сексуальные гормоны 79

1. Фолликулостерон—фолликулярный гормон . 79
2. Производные α-фолликулостерона. 88
3. Химический генезис фолликулостерона . . 95
4. Лутеостерон—гормон желтого тела 98
5. Производные лутеостерона 107
6. Физиологически недеятельные спутники гормона желтого тела в животном организме. . . . . —
7. Химический генезис гормона желтого тела 115

Мужские сексуальные гормоны 119

1. Тестикулостерон—тестикулярный гормон —
2. Производные тестикулостерона 123
3. Химический генезис тестикулостерона . . 127
   Генетическая химическая связь сексуальных гормонов и стеринов и пути образования гормонов пола в животном организме 132
   Биохимический механизм действия сексуальных гормонов в животном организме и связь с обменом веществ 138
   Вопросы химической номенклатуры гормонов пола 145

ГЛАВА ТРЕТЬЯ

Препаративная химия сексуальных гормонов 151

Пути выделения естественных сексуальных гормонов (стеронов) в кристаллическом состоянии 152

1. Общие методические замечания . . . . . —
2. Получение кристаллического фолликулостерона 157
3. Получение кристаллического гидрата фолликулостерона 161
4. Получение кристаллического лутеостерона 164
5. Получение кристаллического тестикулостерона 173
6. Сравнительная оценка методов технологического получения стеронов 177

Пути синтеза сексуальных гормонов 179

1. Общие методические замечания по синтезу стеронов 180
2. Синтез лутеостерона 182
   а) синтез лутеостерона из растительных стеринов (стигмастерина). 183
   б) синтез лутеостерона из животных стеринов 193
3. Синтез мужского полового гормона андростерона 199
4. Вопросы синтеза фолликулостерона 203

ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

Биологическая стандартизация препаратов сексуальных гормонов . . 207

1. Физиологическая проверка действия препаратов женских сексуальных гормонов 208
   Биологическая стандартизация женских сексуальных гормонов . 210
2. Физиологическая проверка действия препаратов мужских сексуальных гормонов . . 214
   Биологическая стандартизация тестикулостерона , ... 219

ГЛАВА ПЯТАЯ

Взаимодействие мужских и женских сексуальных гормонов 224

1. Общие сравнительно—биологические замечания . . . . . —
2. Роль стеронов в проблеме роста и старения 229

ГЛАВА ШЕСТАЯ

Неспецифические гормоны пола 232

1. Физиологическая характеристика гормонов пола передней доли гипофиза . . . . . —
2. Химическая характеристика гормонов пола передней доли гипофиза 237

ПРИЛОЖЕНИЕ

Пути лечения специфическими сексуальными гормонами 239

Перечень литературы 247

ГЛАВА ПЕРВАЯ

ЭНДОКРИННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ЖЕНСКИХ И МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ

Внутренняя секреция половых желез как женских, так и мужских предполагалась чрезвычайно давно. Это следует хотя бы из того факта, что несмотря на отсутствие каких-либо твердых научных представлений уже в древности имелись наблюдения, которые приписывали половым железам очевидно не одну только функцию образования яиц и семени; например, кастрация была широко известна и практиковалась на людях и на животных. Это была одна из операций, столь же далеко уходящих в древность, как например, родовспоможение. С другой стороны, известен не менее поразительный факт из времен Древнего Египта, показывающий, что современные знания о внутренней секреции женских половых желез были не чужды египетским жрецам, естественно, в аспекте эмпирики и знахарства. Так, в засушливые годы на поля выгонялись беременные женщины, которых заставляли мочиться на посевах. Если сравнить этот факт с недавно лишь открытыми свойствами мочи беременных, то тогда мы вынуждены будем констатировать, что это открытие в известной мере не блещет новизной и не может претендовать на приоритет нашего века.

Совершенно естественно, конечно, что от случайных наблюдений, от своего рода бессознательной «экспериментальной физиологии» прошлых веков и до систематических строго научных достижений современной физиологии и химии гормонов лежит огромный путь кропотливой и неустанной работы научной мысли всего человечества. Начало первым попыткам научного подхода к вопросу об эндокринных свойствах половых желез положили работы Бертольда (Berthold), который показал, что после кастрации петуха его «мужские» половые признаки не изменяются, если одновременно с кастрацией вынутое яичко пересадить и приживить на каком-либо другом месте тела. Эти опыты, проведенные еще в 1849 году, как это часто бывает, были совершенно забыты, хотя они послужили основанием для всех экспериментов в дальнейшем по доказательству внутрисекретор-

ной функции половых желез у обоих полов путем трансплантации или имплантации. Знаменитый доклад в 1889 г. в Парижской академии наук Броун-Секара (Brown-Séquard), который в опыте на самом себе доказывал омолаживающее действие инъекций экстрактов из яичек, как бы легкомысленно он ни был первое время принят, явился тем не менее также одной из основ научно обоснованной органотерапии.

Лишь спустя длительное время начались планомерные исследования по внутренней секреции половых желез, которые преимущественно носили характер уже упомянутых опытов Бертольда. Это были трансплантации яичек, яичников и различно проведенные эксперименты по кастрации у обоих полов. Из наиболее заслуживающих внимания следует отметить исследования Гютри (Guthrie), Штейнаха (Steinach), Леспинасса (Lespinasse), Диксона (Dixon) Воронова (Woronoff) и др., доказывающих, что мужская половая железа — яички — должна быть причислена безусловно к эндокринным железам или, точнее, органам смешанной секреции. Почти одновременно появились также исследования Борна (Born), Френкеля (Fraenkel), Френкеля и Германа (Fraenkel-Hermann), Фелльнера (Fellner) и др., которые смогли дать экспериментальные доказательства внутренней секреции женских половых желез — яичников. При этом была особенно отмечена роль в этой функции так называемого «желтого тела».

Понимание эндокринной деятельности мужских и женских половых желез и вытекающие отсюда вопросы химии инкретов этих желез требуют знания некоторых чисто морфологических особенностей строения этих органов, а также физиологической функции последних. Поэтому необходимо здесь предпослать хотя бы в самом кратком очерке некоторые сведения по анатомии и физиологии половых желез обоих полов, особенно учитывая то обстоятельство, что химику, желающему заняться выделением половых гормонов, эти сведения являются не только нужными для теоретического понимания интересующих его веществ, но они имеют и чисто практическое значение, особенно для идентифицирования исходного материала, откуда гормоны пола получаются. Описание строения, функции и чисто биологическая интерпретация эндокринной деятельности половых желез будут базироваться преимущественно на человеке, поскольку все достижения химии половых гормонов, помимо своего специального интереса для химии органических соединений вообще, в конечном итоге имеют своей целью принести облегчение и помощь человечеству.

1. Краткие анатомические сведения

До второго месяца своего развития человеческий зародыш не позволяет установить пола. Половая железа его индифферентна,

закладка полового аппарата гермафродитна, даны одинаковые возможности для развития его в сторону мужского или женского пола. Очевидно, что импульс, ведущий к избирательному развитию полового аппарата и приводящий к дифференциации пола, одновременно должен тормозить развитие противоположных половых признаков, и только если это торможение выпадает, получается одинаковое развитие обоих половых признаков — так называемый истинный гермафродитизм.

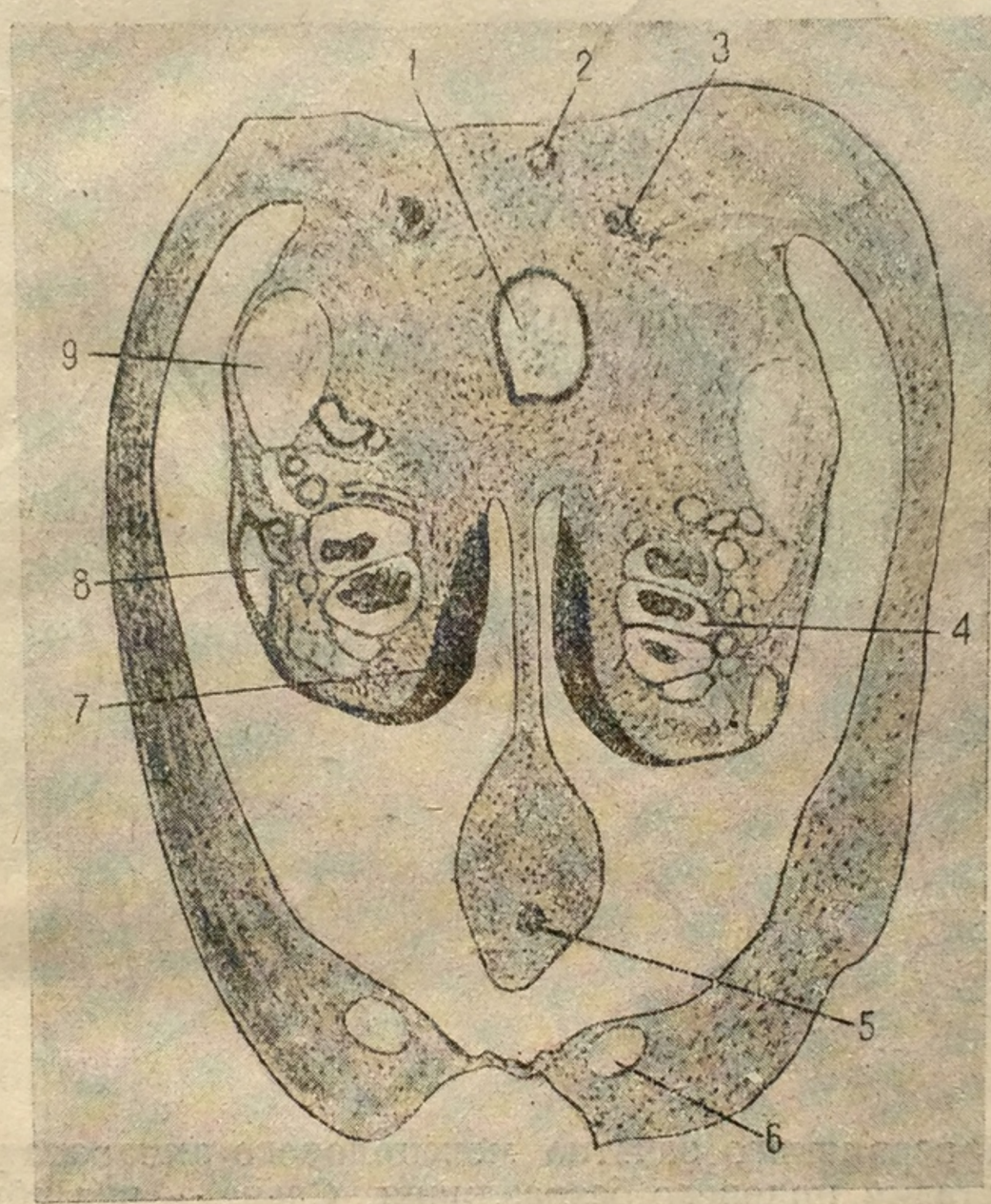


Рис. 1. Человеческий зародыш. Разрез через брюшной отдел. Образование полового тяжа. 8 — вольфов проток; 7 — зачаток половой железы (клетки зародышевого эпителия); 4 — первичная почка.

Половые железы развиваются с медиально-вентральной стороны первичных зародышевых почек в виде так называемого полового тяжа, который у человека появляется сравнительно поздно. Он представляет в самую раннюю стадию по существу разрастающийся слой эпителия (рис. 1).

Несколько позже в этом слое зародышевого эпителия появляются первые половые клетки — будущие носители половых свойств организма, клетки, выполняющие функцию размножения особи. Они отличаются своими большими размерами, светлым ядром и богатством протоплазмы, причем никакого различия в этом периоде между будущими женскими (яйцо) и мужскими (семянные нити) половыми клет-

ками не имеется. В дальнейшем разрастающийся и утолщающийся слой зародышевого эпителия образует у человека стержневидные разрастания, так называемые зародышевые стержни, и целый ряд впячиваний вследствие своего роста внутрь. Таково положение половых желез и половых клеток в стадии полового безразличия, когда оба пола — мужской и женский — одина-

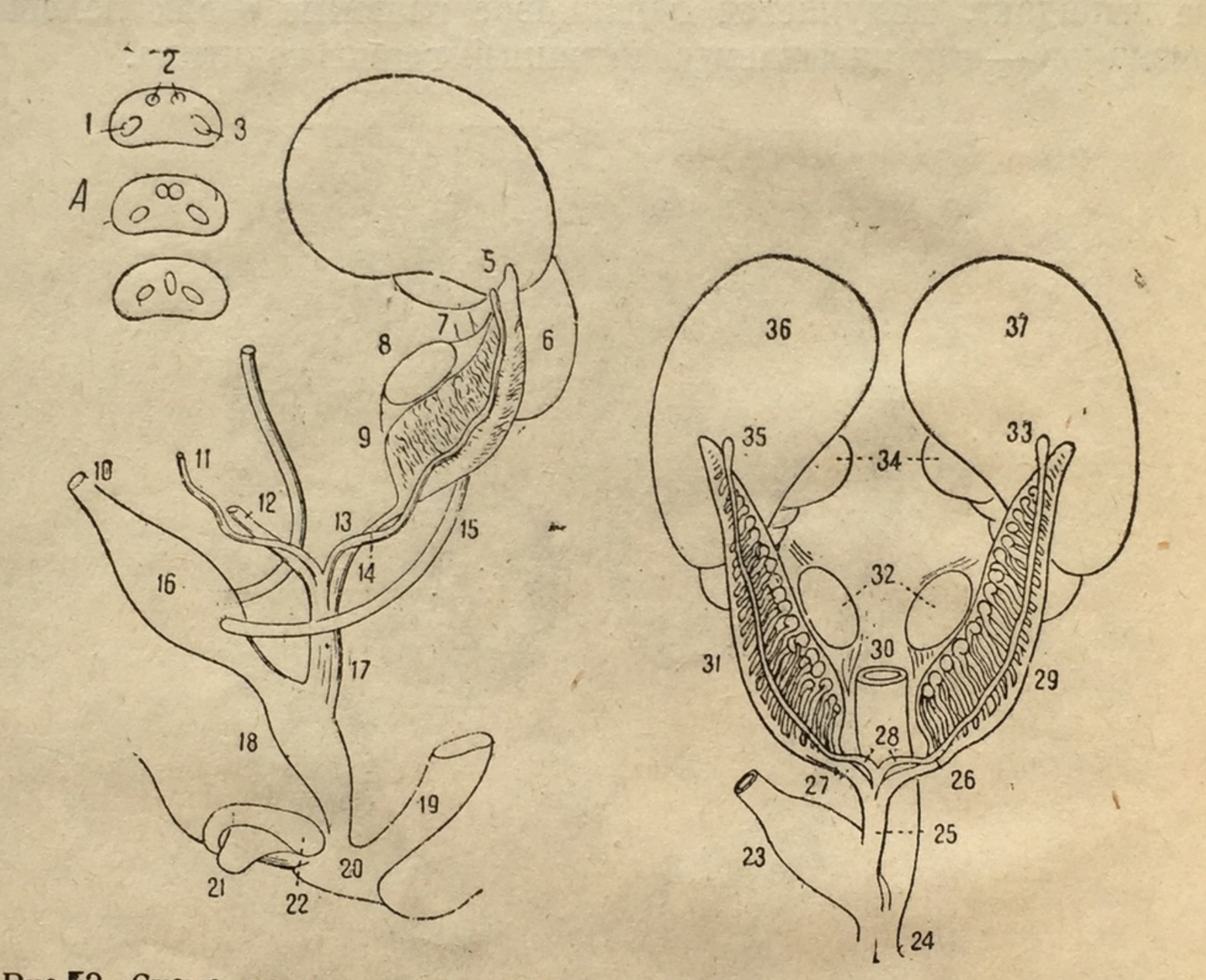


Рис. 2. Схема первичного зачатка мочеполового аппарата у человеческого зародыша в стадии полового безразличия. Слева — вид сбоку. Справа — вид спереди. 36—37 — надпочечники; 6 — левая почка; 5 — левый надпочечник; 34 — постоянные почки; 32, 8 — зачаток половых желез; 9, 31, 29 — вольфово тело; 14, 26, 27, 11, 3 — вольфовы протоки; 13, 28, 2, 33, 35 — мюллеровы протоки; 17, 25 — половой канатик в результате соединения этих протоков; 20, 24 — клоака, т. е. общее отверстие кишечника и мочеполового синуса (23, 18); 21, 20 — половой бугорок, впоследствии развивается в клитор или половой член; 22 — половой валик, впоследствии мошонка или губы.

ковы. Для человека эта картина показана на рис. 2, дающем схематическое изображение первичного зачатка мочеполового аппарата, на рис. 3, где показана модель клоаки зародыша до стадии различия полов, и на рис. 4, дающем представление о наружных половых частях зародышей примерно того же периода.

Дифференцирование половых желез начинается, примерно, с третьего месяца. Прежде всего складывается форма наружных половых частей (рис. 5), которая приводит к видимым различиям пола. Ближе к эмбриональной форме стоит женский тип. Это относится как к половым железам, так и к половым клеткам.

Для сравнения приведены на рисунке 6 анатомические отношения у взрослой женщины и у зародыша.

Не вдаваясь здесь в подробности, следует только набросать общую картину того, как происходит дифференцирование пола и половых клеток. Этого проще всего достичь, если воспользоваться наиболее простыми, но передающими сущность процесса схемами. Общая для млекопитающих схема развития мочеполового аппарата (кроме почек) была предложена Михалковичем (Mihalkowitsch) Она приведена на рис. 7.

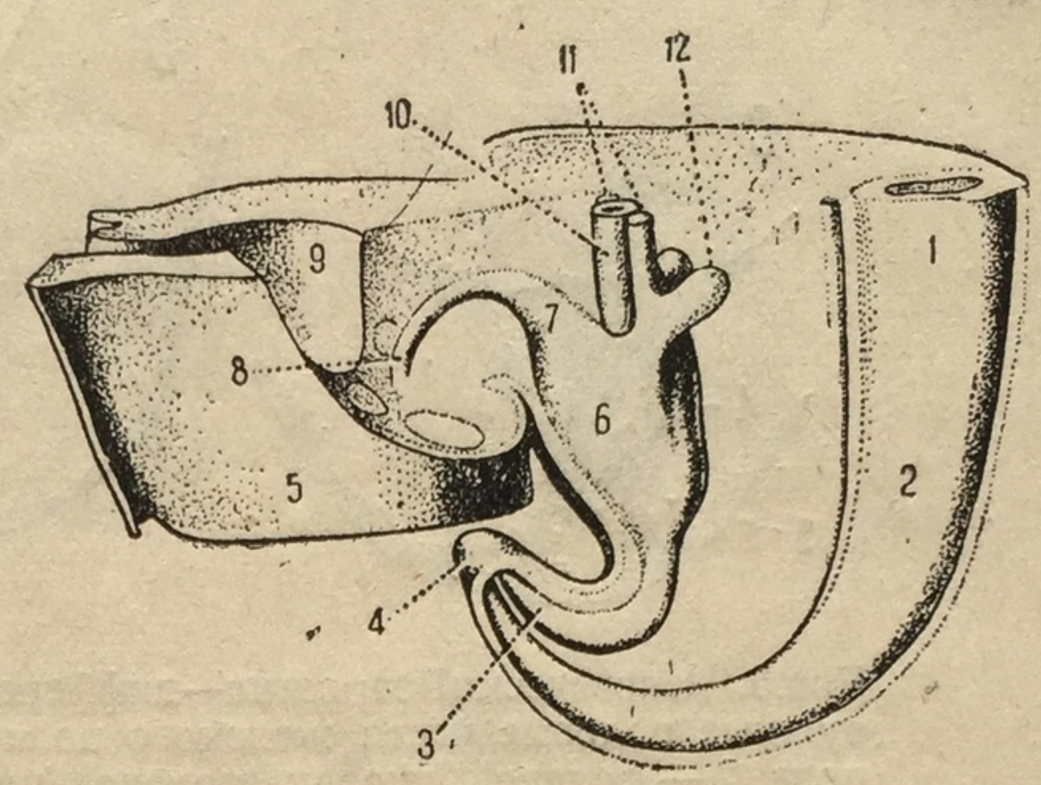


Рис. 3. Модель клоаки человеческого зародыша в стадии полового безразличия. 6— клоака; 11 — вольфов ход; 12 — зачаток почки; 3, 4 — хвост зародыша.

Из этой схемы следует, что половые железы так же, как и половые клетки, предсуществуют и развиваются совершенно самостоятельно, в то время как половой аппарат, представляющий собой вспомогательный механизм, служащий впоследствии основной цели — размножению, развивается в результате ряда сложных и длительных превращений зародышевой почки (вторичная почка, мюллеров, вольфов, гартнеров протоки). Яичники и семенники (яички) образуются, как было показано, в виде особо дифферен-

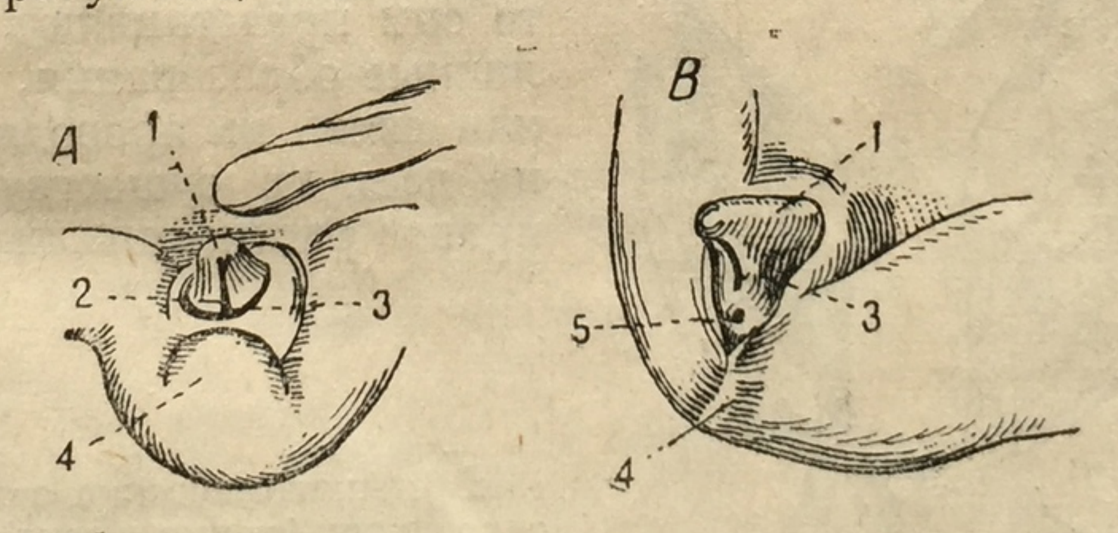


Рис. 4. Схема наружных половых частей человеческого зародыша в стадии полового безразличия. *A* — зародыш 9 недель — общая клоака; *B* — то же 10 недель — появление промежности.

цирующихся сегментальных участков эпителия полости тела, как органы, функции которых уже в зародышевом состоянии предопределяются. По мере дифференцировки пола мочевые железы принимают специфические морфологические признаки: у женских

особей мюллеров проток получает свое дальнейшее развитие, превращаясь в отводящие пути яичников и орган вынашивания оплодотворенного яйца (матка), у мужских особей этот проток редуцируется в стебельчатую гидатиду (рис. 7) и вместо него

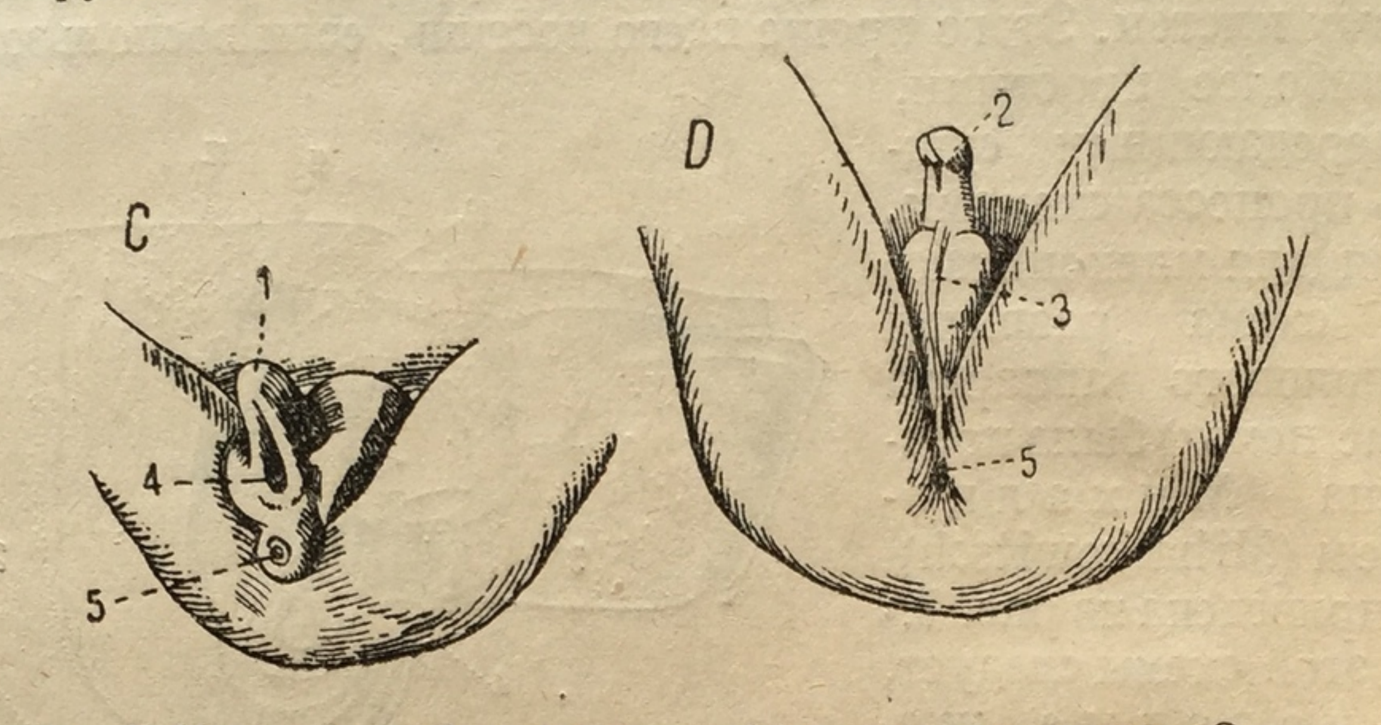


Рис.5. Человеческий зародыш—дифференцировка пола. *C* — наружные половые части женского пола; *D* — то же мужского пола; 2 — половой бугорок (половой член); 3 — мошонка; 1 — клитор и срамные губы; 4 — мочеполовое отверстие (влагалище); 5 — заднепроходное отверстие.

развитие получает вторичная почка, меняющая свою функцию и превращающаяся в аппарат для проведения семени.

Мы видим, следовательно, что как ни тесна связь мочевого аппарата с половым, она всегда выражается, однако, в принятии первым роли проводящих путей. Что же касается половых и мочевых желез, то они представляют столь различные образования, что взаимная связь их проводящих путей не дает по существу никакого права рассматривать, как это

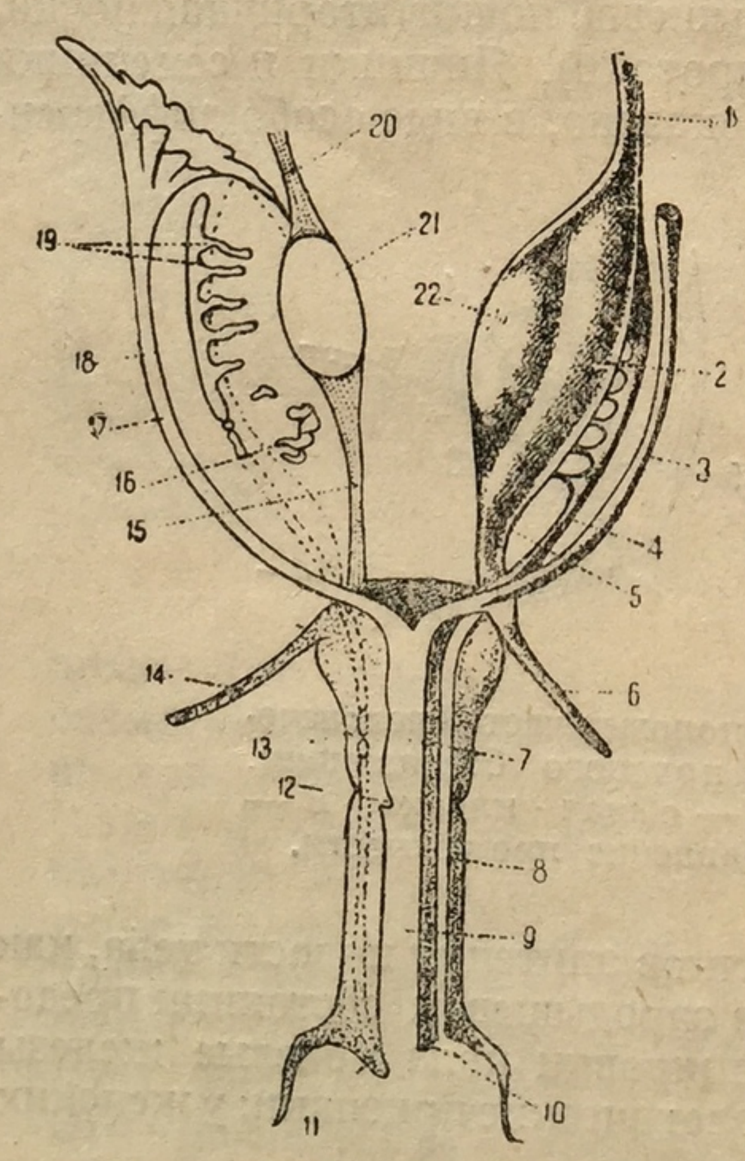


Рис. 6. Анатомические сравнительные отношения (схематически) у взрослой женщины (слева) и у зародыша женского пола (справа). 21 — яичник; 22 — зародышевая половая железа; 15, 20, 14 — связки яичника и матки; 1, 5, 6, 15 — первично-почечные паховые складки; 19 — Epoophoron; 2 — средняя почка; 18 — труба; 3 — мюллеров ход; 16 — paroophoron; 4, 8 — вольфов ход; 7 — матка; 13 — гартнеров ход: 9 — влагалище; 11 — hymen; 10 — мюллеров холмик.

к сожалению часто делается, обе системы как что-то единое, как мочеполовую систему. Тем более надо учесть, что половые железы являются могущественным фактором жизненных процессов в организме мужчины и женщины, представляя собой не только орган выделительный, но и внутрисек-

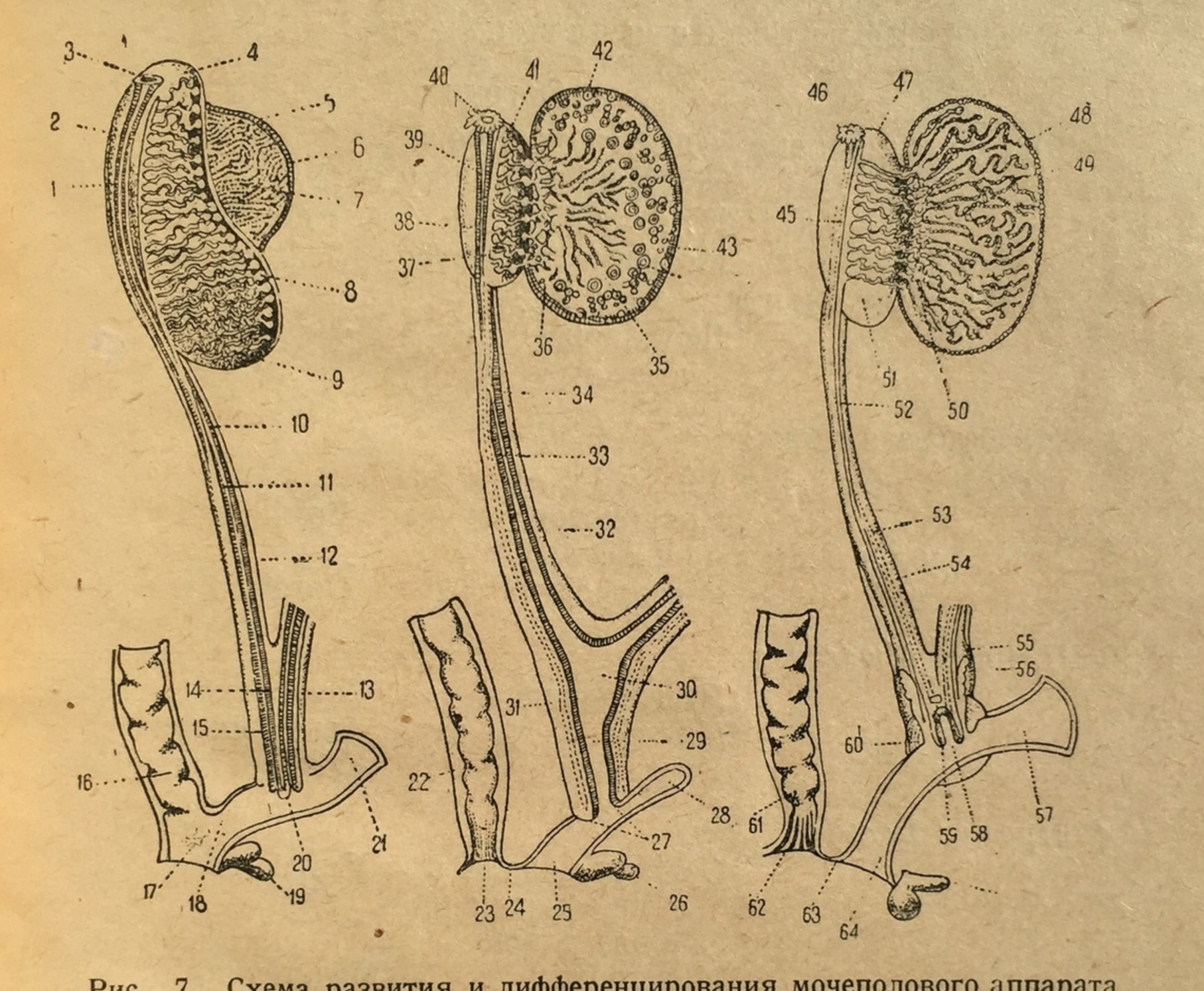


Рис. 7. Схема развития и дифференцирования мочеполового аппарата (без почек) млекопитающих по Михалковичу.

Слева направо: индиферентная стадия — женский пол — мужской пол. 2, 15, 38, 43, 11, 33, 52 — вольфов проток; 1, 10, 14, 27, 29, 34, 39, 53 — мюллеров проток; 4, 41, 47, — вольфово тело; 9, 37, 51 — вольфовы канальцы; 12, 32, 54 — вольфов канатик; 3, 40, 46, 58 — отверстие мюллерова протока; 5, 42, 48 — зародышевый эпителий; 6 — половая железа; 8, 35 — тельца Мальпиги; 13, 31, 55 — половой канатик; 18, 21, 28, 57, 64 — мочеполовой синус; 20, 27, 59 — мюллеров холмик; 19 — половой бугорок; 17 — клоака; 16, 22, 61 — прямая кишка; 43 — яичник; 44 — примордиальные яйца; 42 — эпителий яичника; 30 — матка; 25 — влагалище; 26 — клитор; 39 — труба; 40 — отверстие трубы; 24, 63 — промежность; 23, 62 — заднепроходное отверстие; 48 — зачатковый эпителий яичника; 36, 50 — rete testis; 49 — канальцы яичка; 56 — семенные пузырьки; 47 — epididymis; 65 — половой член; 64 — уретра; 60 — простата.

реторный, инкрет которого, как будет следовать из дальнейшего изложения, определяет общий жизненный тонус организма и стоит в коррелятивной связи с прочими эндокринными железами.

Резюмировать все изложенное относительно эмбриональных соотношений при развитии половой системы у женских и мужских индивидуумов можно в виде следующей наглядной схемы Краттера:

1. Половые железы:

а) специфические клетки пола:

Оогонии	Сперматогонии

б) составные части желез:

Эпителий фолликул	Tubuli contorti
Rete ovarii	Rete testis
Мозговое вещество	Tubuli recti

в) межуточная ткань:

Лютеиновые клетки	Межуточные клетки

2. Зародышевая почка:

а) краниальная часть

Epoophoron	Epididymis

б) каудальная часть

Paroophoron	Орган Giraldé

3. Проток Мюллера:

Яйцепровод Матка Влагалище	Стебельчатая гидатида яичка и «Vagina masculina»

4. Проток Вольфа:

Остатки канала в стенке матки и влагалища	Vas deferens
Мочеточник	Мочеточник
Мочеиспускательный канал	Pars prostatica urethrae

5. Sinus urogenitalis (клоака):

Introitus vaginae	Pars nuda urethrae
Железы Бартолиниевые.	Железы Купера
Ходы Skenè	Prostata

6. Половой бугорок:

Клитор и малые губы.	Половой член.

7. Половая складка:

Большие срамные губы.	Мошонка

8. *Паховая связка* (вторичной почки)

Lig. ovarii proprium	Gubernaculum
Lig. rotundum	Hunteri

Эта схема соответствует тем отношениям, которые показаны на рис. 8.

Рис. 8. Общая схема развития пола по Краттеру
1 — общая зародышевая закладка полового аппарата;
2 — женский пол; 3 — мужской пол.

Остается разобрать дифференциацию носителей свойств того или иного пола — специфических половых клеток, которые, как мы видели, являются у зародыша также бесполыми и лишь с конца третьего месяца начинается их диф-

ференцирование, окончательное же созревание соответствует периоду половой зрелости обоих полов и совпадает с началом выраженной и непрекращающейся до старости эндокринной деятельности половых желез. На рис. 9 показан в виде схемы цикл сравнительного развития мужских и женских зародышевых клеток из первичной половой клетки.

Заканчивая этим общий обзор наиболее существенных данных развития полового аппарата, мне кажется важным учесть

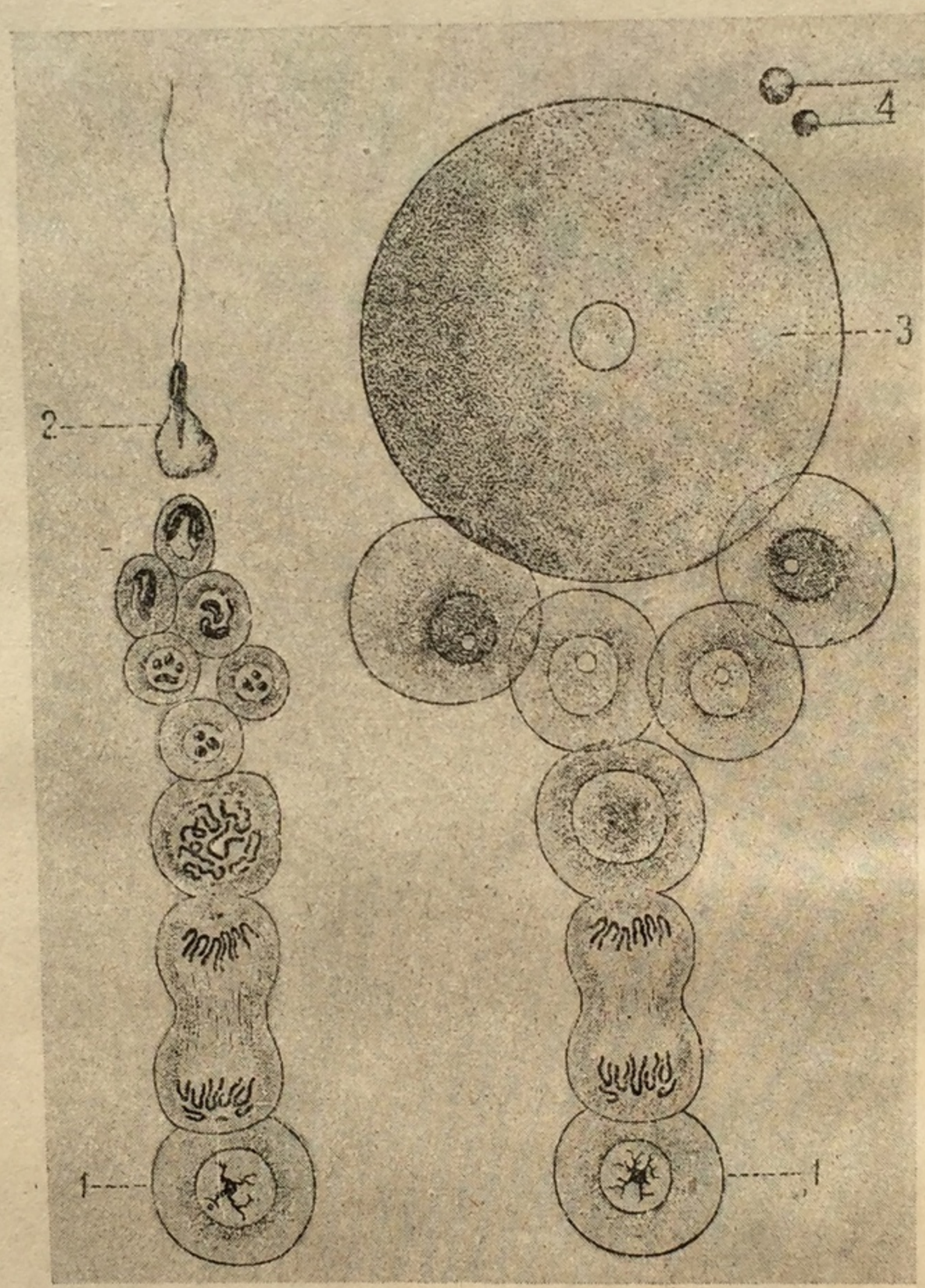


Рис. 9. Цикл развития мужских и женских половых клеток (схема Кольмана) из первичной зародышевой половой клетки. Слева — развитие мужского сперматозоида (0,05 мм). Справа — развитие женского яйца (0,2 мм). 1 — первичные половые клетки; 2 — зрелая семенная нить (сперматозоид); 3 — зрелое яйцо; 4 — полюсные клетки.

этот фактический материал для сопоставления его в сравнительно биохимическом разрезе с генетической связью, которая, как это будет ниже показано, имеет место между мужскими и женскими половыми гормонами. Повидимому, оба гормона не только стоят весьма близко друг к другу по химическим признакам и строению, но очень возможно, что они образуются в

организме мужчины и женщины в одной и той же аналогичной стадии обмена веществ. Ибо нетрудно предположить, исходя из данных развития вначале тождественных по своим морфологическим особенностям половых желез обоих полов, что и процесс химического образования инкрета этих желез принципиально является тождественным, дифференцировка его есть лишь следствие некоторых общих особенностей химизма обмена у обоих полов.

ЖЕНСКИЕ ПОЛОВЫЕ ЖЕЛЕЗЫ

Внешняя форма женских половых желез складывается примерно следующим образом: головной и хвостовой отделы полового эмбрионального тяжа исчезают, а средний — отшнуровывается от подлежащих тканей (сохраняя с последними связь лишь при помощи складки брюшины) и образует продолговатое тело с гладкой поверхностью и зазубринами по краям — так называемый зародышевый яичник (рис. 10 и рис. 11). С таким яичником женская особь начинает свою внеутробную жизнь, и лишь значительно позже происходят изменения внешней формы яичника, отличающие его как яичник взрослой, половозрелой женщины.

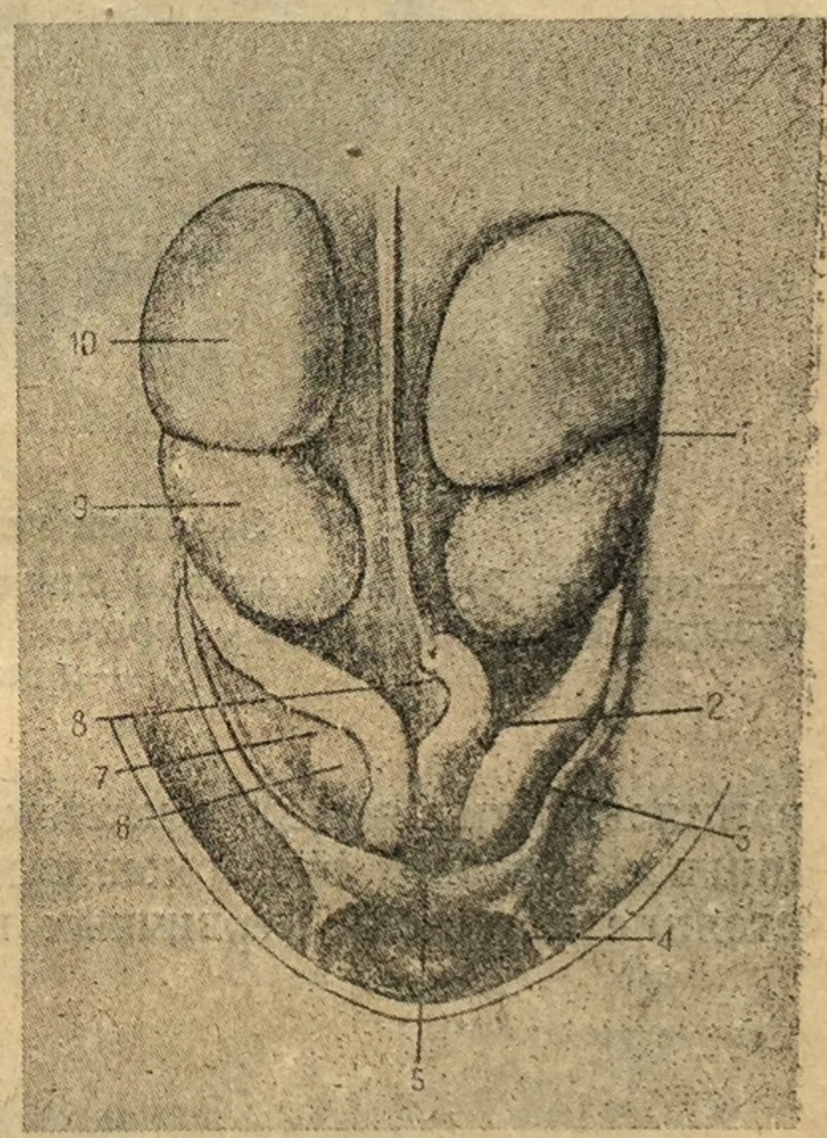


Рис. 10. Зародыш человека, (кишечник удален). 2 — яичник; 5 — половой тяж; 9, 1 — почка; 10 — надпочечник.

Таким образом, анатомически женской половой железой является яичник. У взрослой женщины он представляет собой овальное, серовато-красное продолговато-уплощенное тело, обладающее совершенной подвижностью относительно маточных связок, к которым оно прикреплено указанной выше складкой брюшины, заключающей в себе нервы и питающие яичник сосуды. Общее представление об анатомических соотношениях у взрослой женщины дает рис. 12. Средние размеры нормального яичника половозрелой женщины: длина от 2,5 до 5 см, ширина от 2 до 3 см, толщина $1—1^1/_2$см; вес колеблется от 8,0 до 10,0 грамм, в некоторых случаях достигая 12,0 грамм. Поверхность, в отличие от зародышевого яичника, бугорчатая, покрытая бороздками и рубцами. На разрезе ясно различается

корковый слой, содержащий фолликулы в разных стадиях их развития, и свободный от них мозговой слой. Как показывает экспериментальный физиологический материал опытов, функция яичников, являющихся местом образования и созре-

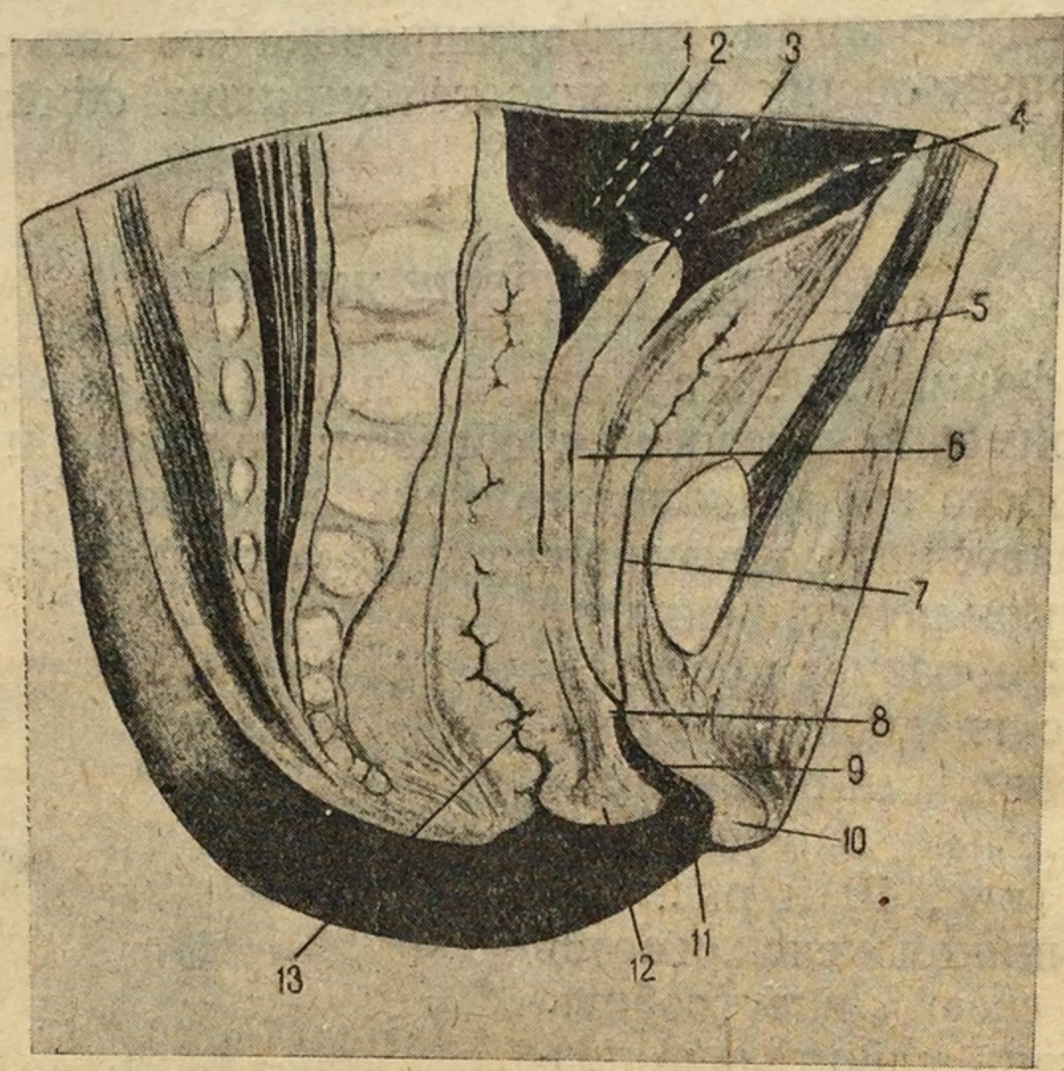


Рис. 11. Зародыш человека (срез через таз).
1 — яичник; 9 — мочеполовой синус; 2 — труба; 3 — матка; 5 — мочевой пузырь; 10 — клитор; 12 — промежность; 8 — зачаток девственной плевы; 13 — прямая кишка.

вания женских яйцевых клеток, сводится к эндокринной регуляции всей половой сферы женщины и определяет анатомическое состояние и рост первичных и вторичных половых признаков

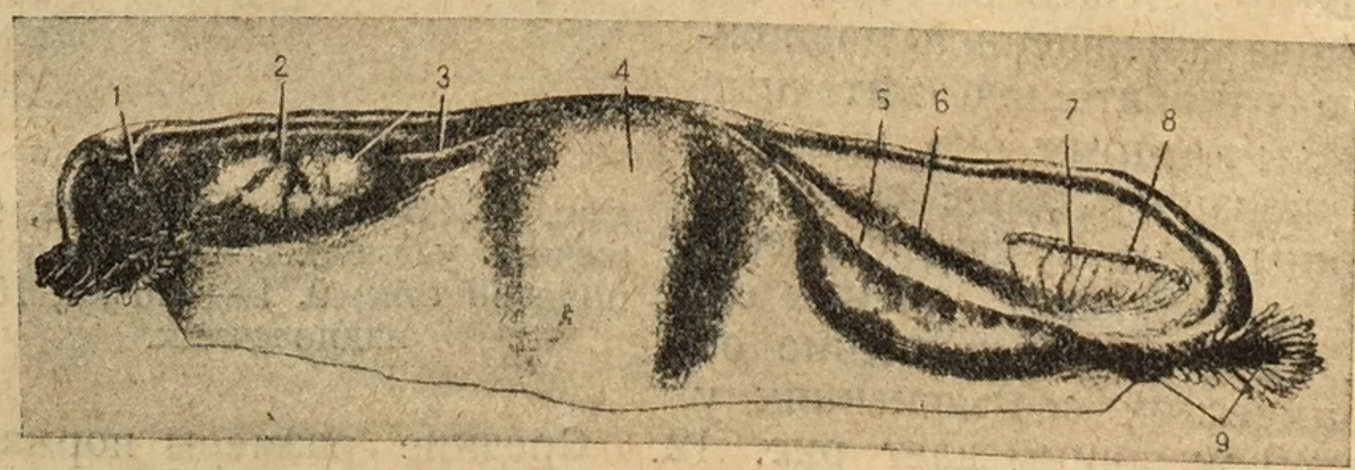


Рис. 12. Общее расположение и размеры половых органов взрослой женщины. (Слева яичник в нормальном положении, справа он откинут кпереди.)
2 — яичник; 5 — linea alba яичника; 3 — связка яичника; 6 — mesovarium; 4 — матка; 1 — часть трубы; 7, 8 — epoophoron 9 — фимбрии трубы.

женщины. Наиболее демонстративна роль яичников в механизме специфического для женщины физиологического процесса менструаций. Здесь дело идет о непрерывной гуморальной регуляции эндогенным путем полового органа женщины — матки, органа, служащего для принятия оплодотворенного яйца, вынашивания его в плод и, в заключение, для изгнания уже созревшего плода. Целый ряд специфических изменений в матке, наступающих под влиянием внутрисекре-

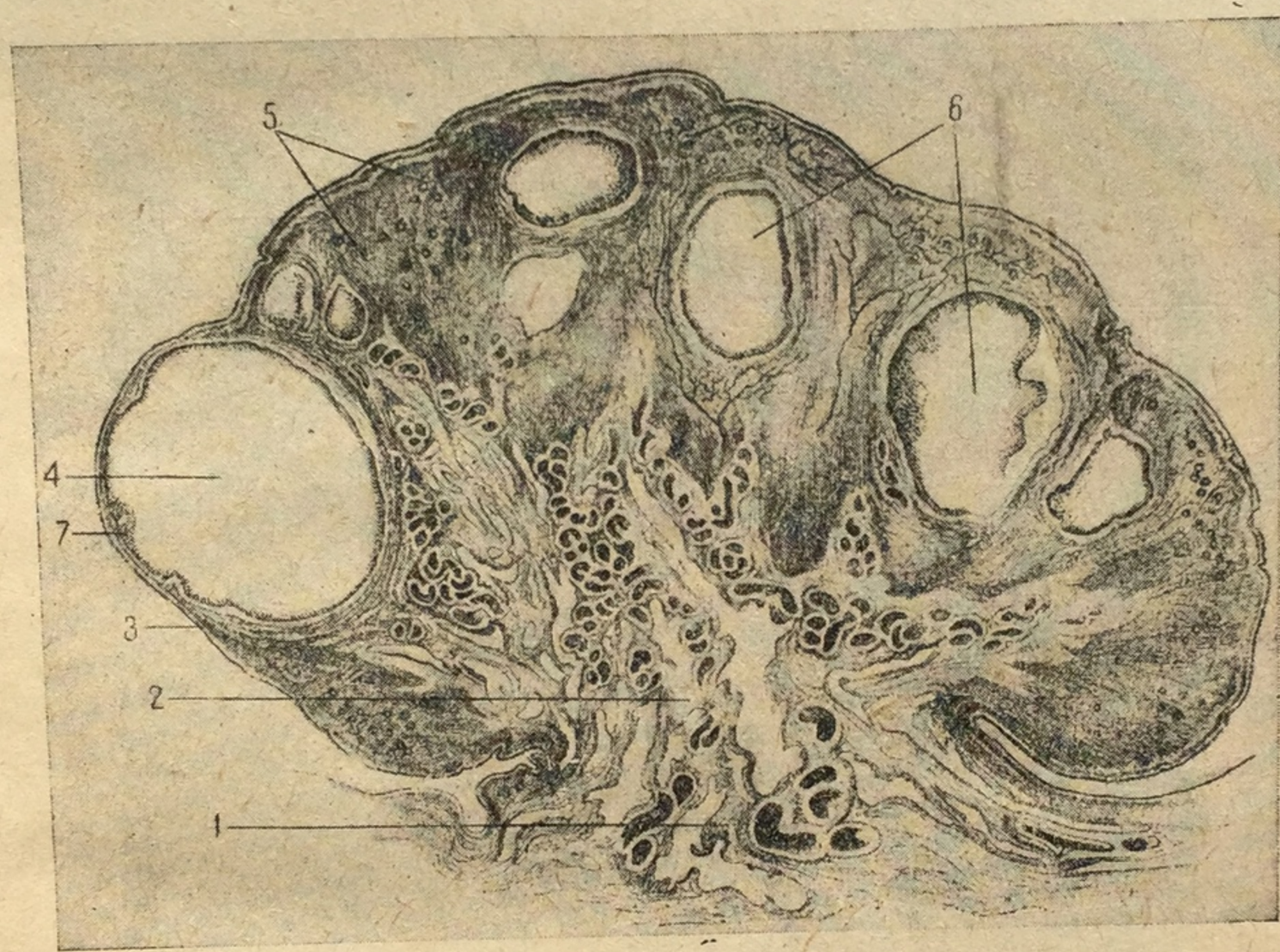


Рис. 13. Яичник взрослой женщины (девственницы). Микроскопическая картина среза под малым увеличением. Артерии инъецированы.

1 — складка брюшины; 2 — мозговой слой с сосудами; 3 — зародышевый эпителий на поверхности яичника; 4 — созревающий фолликул; 5 — фолликулы примордиальные в корковом слое; 6 — Discus oophorus с яйцом.

торной деятельности яичников, может служить критерием для суждения о последней, а следовательно, и о действии специфических химических агентов — женских сексуальных гормонов. Вследствие этого, весьма существенным является точное знание морфологических особенностей яичника, различные клеточные элементы которого несут различную физиологическую функцию. Прежде всего представляет интерес рассмотрение разреза яичника половозрелой женщины (девственницы) под малым увеличением (рис. 13). Уже здесь можно ясно различить три структурно различных зоны: наружную оболочку, состоящую из однослойного цилиндрического зародышевого эпителия, мозговой слой с извитыми сосудами и трубчатыми образованиями (мозговые тяжи Келликера (Kölliker), представляющими, повидимому, дериваты зародышевого эпителия, и наконец, мощный паренхи-

матозный слой, содержащий типичные составные элементы яичника — так называемые Граафовы фолликулы. Этот слой охватывает как бы шапкой внутренний мозговой слой, расположенный у ворот яичника. Важно сопоставить эту картину с микроскопической картиной яичника 5-месячного человеческого зародыша, где уже наступило дифференцирование пола (рис. 14). В эту столь раннюю стадию развития женского полового аппарата можно уже ясно констатировать специфические

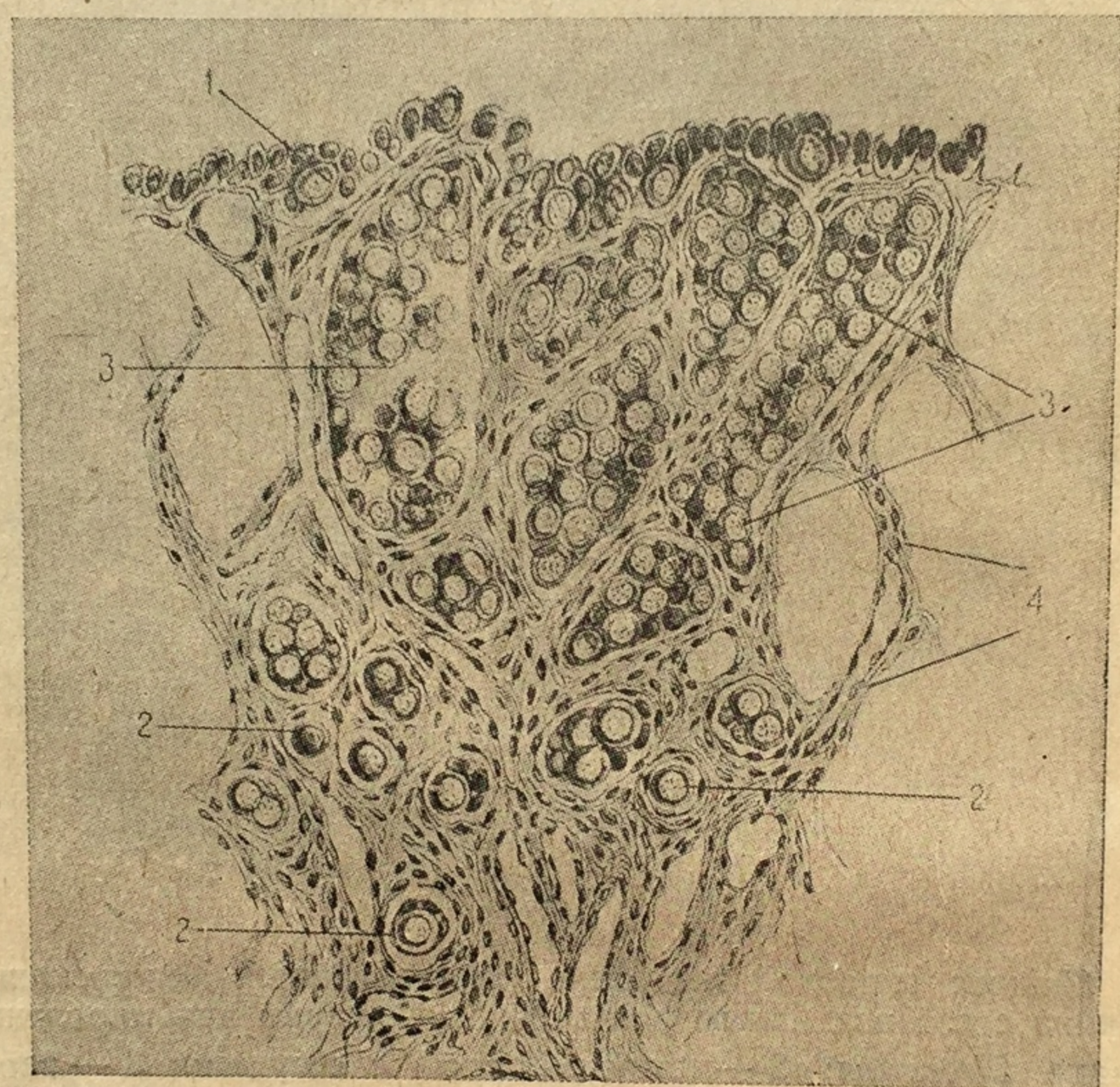


Рис. 14. Яичник человеческого зародыша женского пола 5 месяцев. Микроскопическая картина среза под большим увеличением.
1 — первичное яйцо; 2 — примордиальные фолликулы; 3 — конгломераты яиц (Вальдейера); 4 — строма яичника с сосудами.

образования — «примордиальные Граафовы пузырьки или первичные фолликулы», состоящие из одного примордиального яйца и нескольких клеток зародышевого эпителия. Новорожденная девочка имеет в своем яичнике готовую основную массу «примордиальных фолликулов», остающихся на все время ее дальнейшей половой жизни и насчитывающих от 36.000 до 200.000 на один яичник. Во внеутробной жизни новообразование яиц не доказано. После рождения в яичниках не происходит никаких значительных и морфологически заметных изменений, отличных от описанной выше картины. Лишь к концу первого десятилетия

в период, обозначаемый «периодом полового созревания женщины», когда развитие организма приближается к своему завершению и питательный материал, расходуемый на пластические цели организма, освобождается для целей размножения, начинается ряд коренных изменений в яичниках, отмечаемых как процесс «овуляции» или созревания фолликулов с отделением способного быть оплодотворенным яйца. В таких яичниках можно различить три стадии развития фолликула, которые показаны на рис. 15. Первая стадия образования фолликула, или «стадия примордиального фолликула», характерна микроскопической картиной, которая была уже приведена на рис. 14. Для нее типично сильное размножение зародышевого эпителия, повторные деления первичных яиц —овогоний и взаимное прорастание эпителия и сосудосодержащей соединительной ткани. В результате,тяжи яйцевых клеток, так называемые «яйцевые конгломераты Вальдейера (Waldeyer)» (или «Валентин-Пфлюгеровские ходы»), разделяются врастающей в них соединительнотканной стромой на изолированные отдельно лежащие «примордиальные фолликулы» (рис. 16). Такой фолликул отличается отсутствием клеточной оболочки, голая протоплазма яйца мелкозернистая, имеет вид тонкой сети волоконец, распределенных в светлом основном веществе. Каждое примордиальное яйцо окружено плоскими эпителиальными клетками, расположенными послойно (рис. 15). Вторая стадия развития фолликула—«период роста и созревания примордиального фолликула». Гистологически она заключается в превращении упомянутого выше однослойного эпителия в многослойный, располагающийся в виде «эпителиального венчика» вокруг яйца. Эта картина

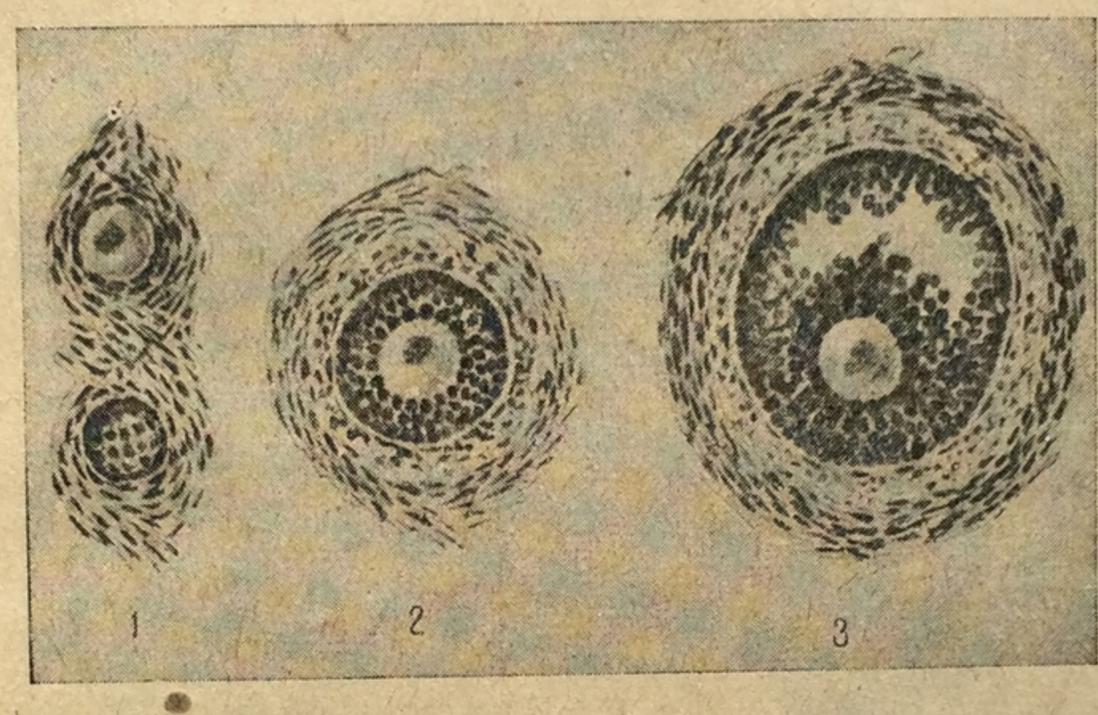


Рис. 15. Различные стадии развития фолликул в яичнике в период полового созревания.

2 — стадия примордиального фолликула; 2 — стадия роста и созревания 3 — стадия зрелого фолликула или Граафова пузырька.

видна на рис. 17. В дальнейшем, вследствие вакуолизации клеток этого венчика и распада их протоплазмы, фолликул наполняется жидкостью (liquor folliculi) и окружается соединительнотканной оболочкой (theca folliculi), состоящей из многих слоев: наружного (tunica externa), промежуточной бесструктурной оболочки, продуцируемой, повидимому, эпителием фолликула (membrana granulosa), и внутренней, пронизанной капиллярами (tunica interna). Все эти отношения показаны на рис. 15, 16 и 17.

Наряду с описанными изменениями, которые претерпевает фолликул, одновременно происходит ряд морфологических пре-

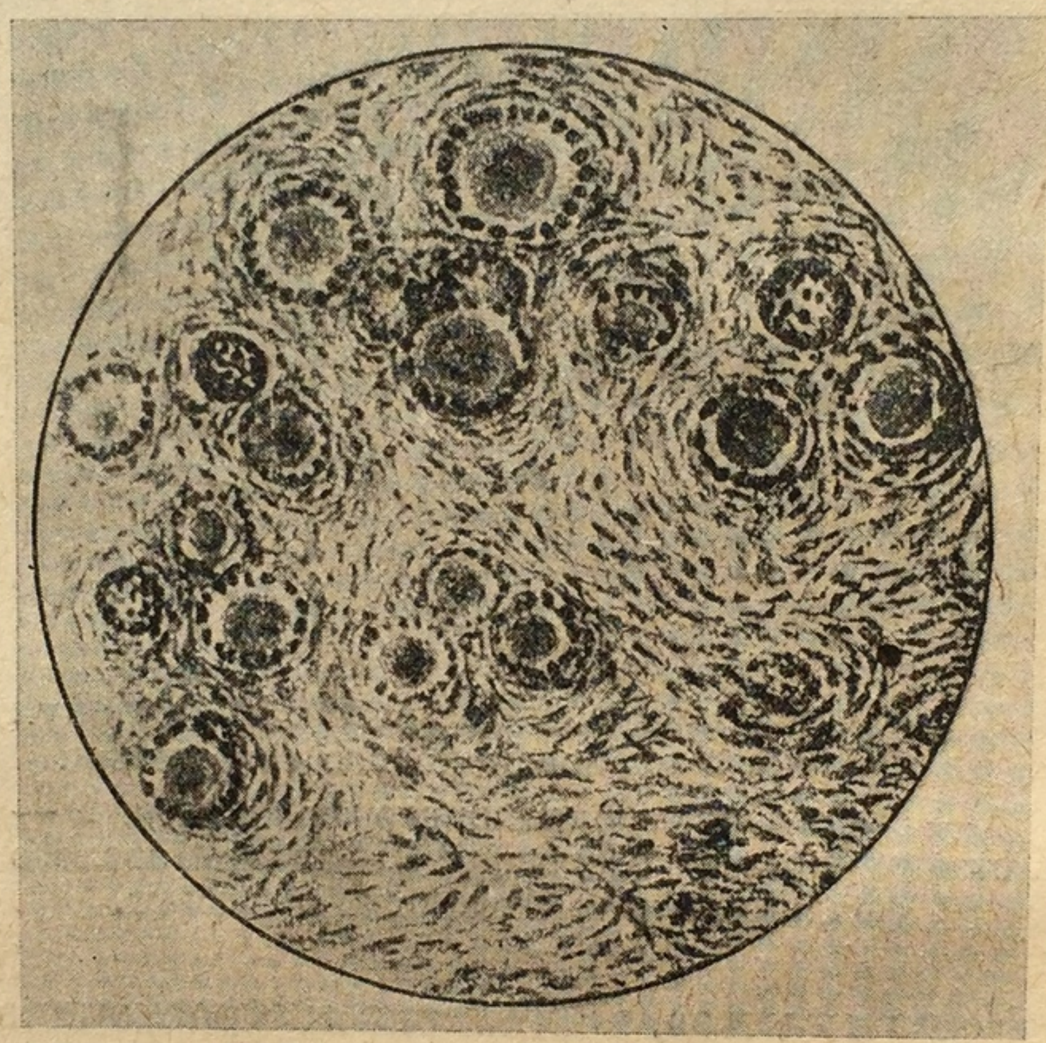


Рис. 16. Микроскопическая картина примордиальных фолликулов из яичника половозрелой женщины.

вращений в «примордиальном яйце», заключенном в фолликуле. Яйцо постепенно окружается концентрической капсулой с радиарной исчерченностью — так называемой «zona pellucida», причем пространство между нею и яйцом (околожелточное щелевое пространство) заполняется жидкостью так, что яйцо в последней совершенно свободно взвешено. Сама протоплазма яйца медленно превращается в питательный желток — «дейтоплазму», оттесняющую ядро к периферии яйцевой клетки. Дальнейшее развитие всех перечисленных элементов фолликула и яйца приводит к третьей стадии его развития — к «стадии зрелого Граафова фолликула» или «зрелого Граафова пузырька». Зрелый фолликул или Граафов пузырек, достигающий в яичнике половозрелой женщины по-

перечника до 2 см, уже заметен макроскопически в виде горбовидного выпячивания на свободной поверхности яичника.

Микроскопическая картина Граафова пузырька показана на рис. 18 (малое увеличение) и на рис. 19 (большое увеличение). Вследствие давления растущего фолликула на свободную поверхность яичника, получается истончение (stigma), имеющее бледный вид, резко выделяющееся на общем фоне непрозрачной массы яичника. На этом месте происходит лопание фолликула и выхождение из него зрелого яйца наружу. Только теперь яйцо становится способным к оплодотворению.

Рис. 17. Микроскопическая картина при большом увеличении созревающего фолликула (яичник половозрелой женщины).

Сильное развитие сосудов в tunica externa thecae folliculi ведет к резкому увеличению в своем объеме и разрастанию клеток tunicae internae — они выпячиваются в виде сосочков и заполнены зернистой желтоватой массой. Это фундамент, основание, которое еще до лопания фолликула закладывается в яичнике для развития особого органа — «ж е л т о г о т е л а» (c o r p u s l u t e u m), несущего внутрисекреторную функцию яичника особенно при беременности.

В фолликуле скопляется большое количество жидкости, я й ц о окружено богатым слоем радиарно расположенных эпителиальных клеток (discus oophorus). Разрастание клеток tunica interna, переходящих впоследствии в так называемые «л ю т е и н о в ы е к л е т к и» желтого тела, и жировое пере-

рождение эпителия фолликула ведут к смещению discus oophorus вместе с свободно лежащим в нем яйцом к месту истончения фолликула (stigma) и, в результате, к разрыву фолликула, изливанию из него фолликулярной жидкости и выхождению зрелого яйца наружу.

Зрелое человеческое яйцо представляет шаровидное образование до 0,2 мм в диаметре с ядром в виде пузырька диаметром до 50 микрон, носящего название «зародышевого пузырька», содержащего хроматиновую сеть с ядрышком или «зародышевым пятном». Протоплазма яйца, называемая

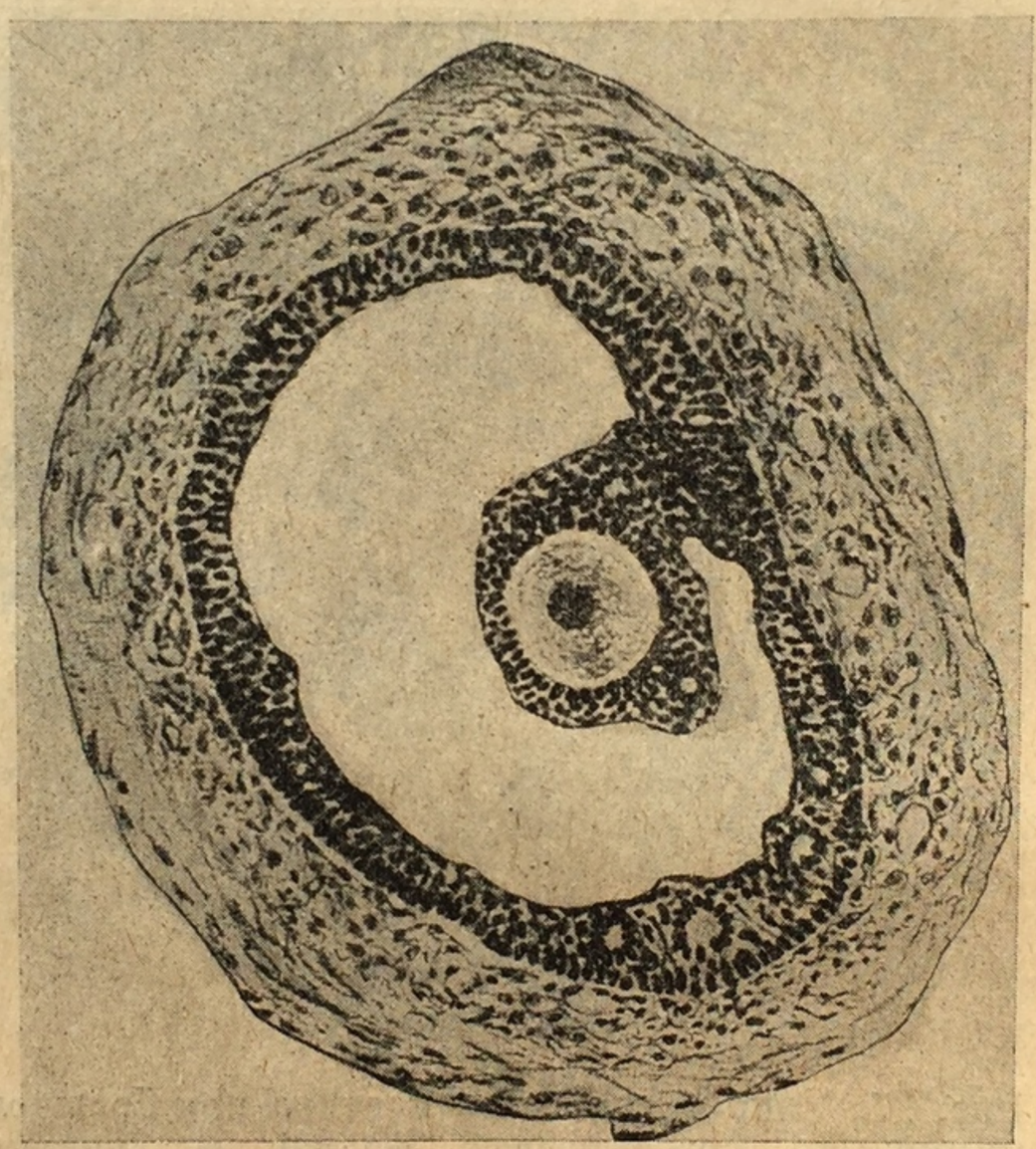


Рис. 18. Микроскопическая картина при малом увеличении зрелого фолликула в стадии готового к разрыву Граафова пузырька.

«желтком», окружена развитой zona pellucida, толщина которой достигает 7—12 микронов. У яиц не млекопитающих животных эта оболочка отличается присутствием в ней отверстия для вхождения оплодотворяющего сперматозоида. На рис. 20 показан препарат вполне зрелого человеческого яйца. Не останавливаясь на дальнейшей судьбе яйца, следует возвратиться к следующему этапу морфологического состояния фолликула.

Лопнувший фолликул спадается и наполняется кровью из сосудов tunica externa, которая выполняет образовавшуюся в яичнике полость. Граафов пузырек, таким образом, превращается в «желтое тело» (corpus luteum), которое образуется в

месте полости лопнувшего фолликула в процессе «заживления» дефекта и сильного развития «лютеиновых клеток» из tunica interna фолликула и клеток theca folliculi. Свежее corpus luteum (рис. 21), достигает величины от 1 до 2 см в диаметре. Наиболее сильного развития «желтое тело» достигает в случае, если яйцо оплодотворилось и наступила беременность (рис. 22).

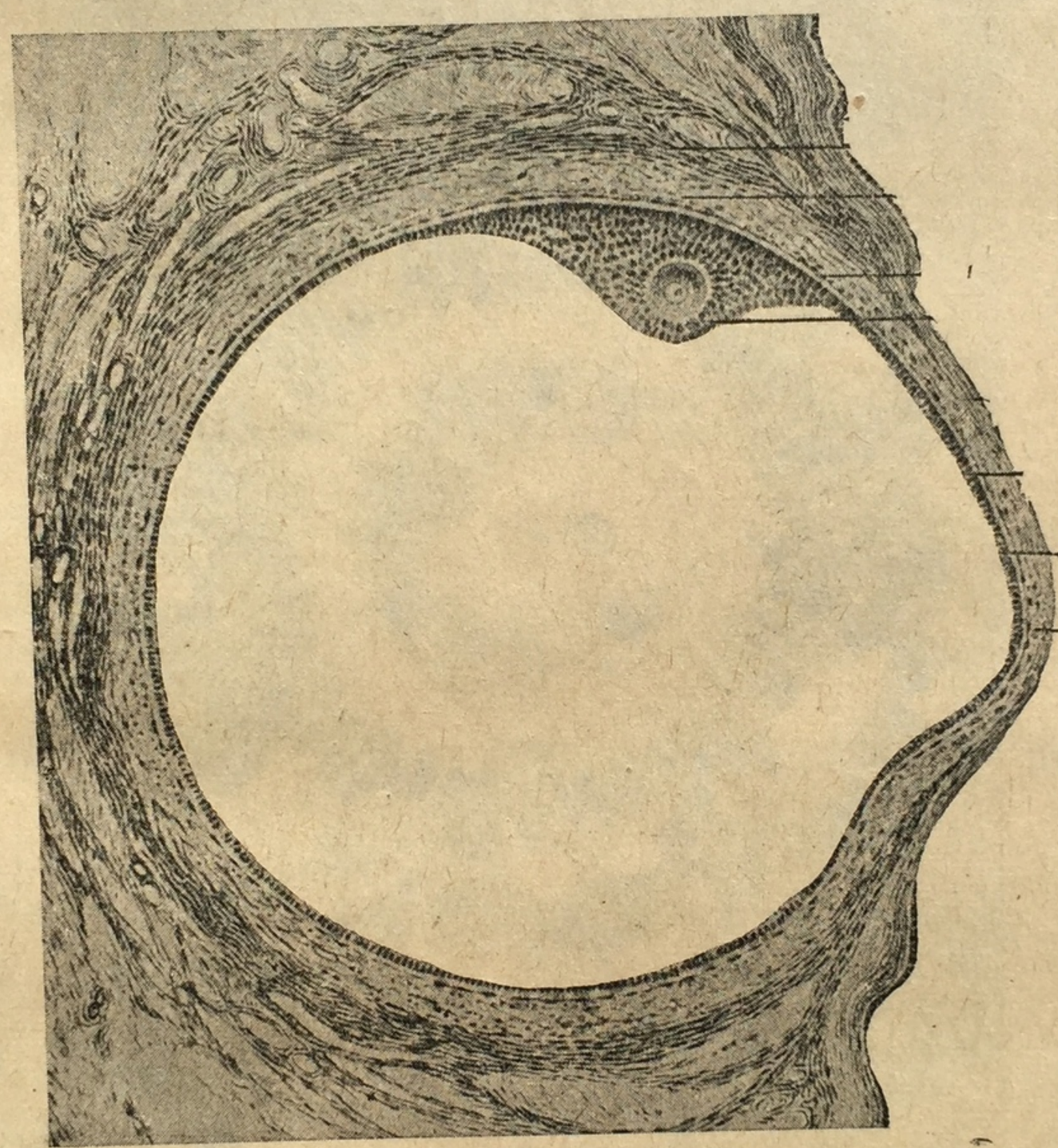


Рис. 19. Зрелый Граафов пузырек под большим увеличением, стадия готового к разрыву пузырька с горбовидным выпячиванием на поверхности яичника.

Длительность существования «желтого тела» с момента лопания Граафова пузырька зависит от того, оплодотворилось ли вытолкнутое яйцо. Если оплодотворения не наступило, то обычно «желтое тело» образуется быстро и быстро исчезает — рубцуется. Это так называемое «ложное желтое тело», или corpus luteum spurium sive menstruationis. Обычно оно на 3-й неделе после раз-

рыва фолликула достигает своего максимального развития, после чего сразу же наступает его обратное развитие, — клеточные элементы распадаются, соединительная ткань переходит в фиброзную и в результате остается едва просвечивающий на поверхности яичника фиброзно-гиалиновый рубец, след от бывшего «желтого тела» — corpus fibrosum sive albicans.

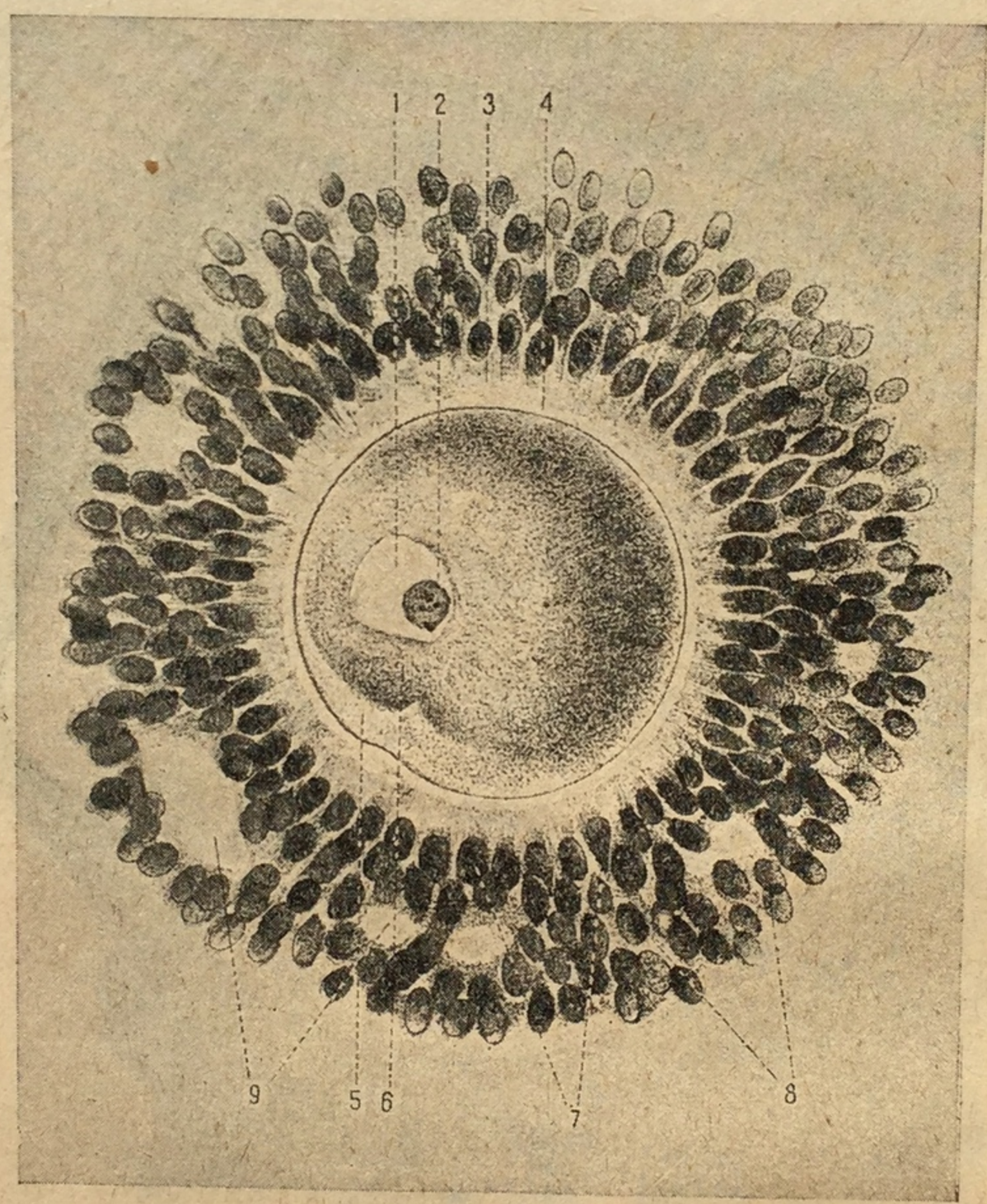


Рис. 20. Зрелое человеческое яйцо (большое увеличение) из созревшего Граафова пузырька.

1 — зародышевый пузырек; 2 — зародышевое пятно; 3 — Zona pellucida; 4 — околожелточное щелевое пространство; 5 — протоплазма; 6 — дейтоплазма; 7—8 — эпителиальные клетки; 9 — дефекты в слое эпителия.

Весь цикл развития «желтого тела» описанного выше типа приведен на рис. 23, 24 и 25. При наличии оплодотворения яйца и наступления беременности образующееся «желтое тело» отличается не только колоссальным развитием, с полным правом претендующим на отнесение его к отдельно функционирующему новообразованному органу, составляющему почти треть всего объема яичника (ср. рис. 22), но и длительностью своего суще-

ствования. Оно образуется медленно, достигая наибольшего развития, примерно, на 12-й неделе беременности, и сохраняется в общем до полного ее окончания. Этот тип «желтого тела»

Рис. 21. Макроскопическая картина среза яичника со свежим, менструальным желтым телом.

называется «corpus luteum verum sive graviditatis».

В заключение необходимо остановиться вкратце на тонком строении «желтого тела» в период его максимального

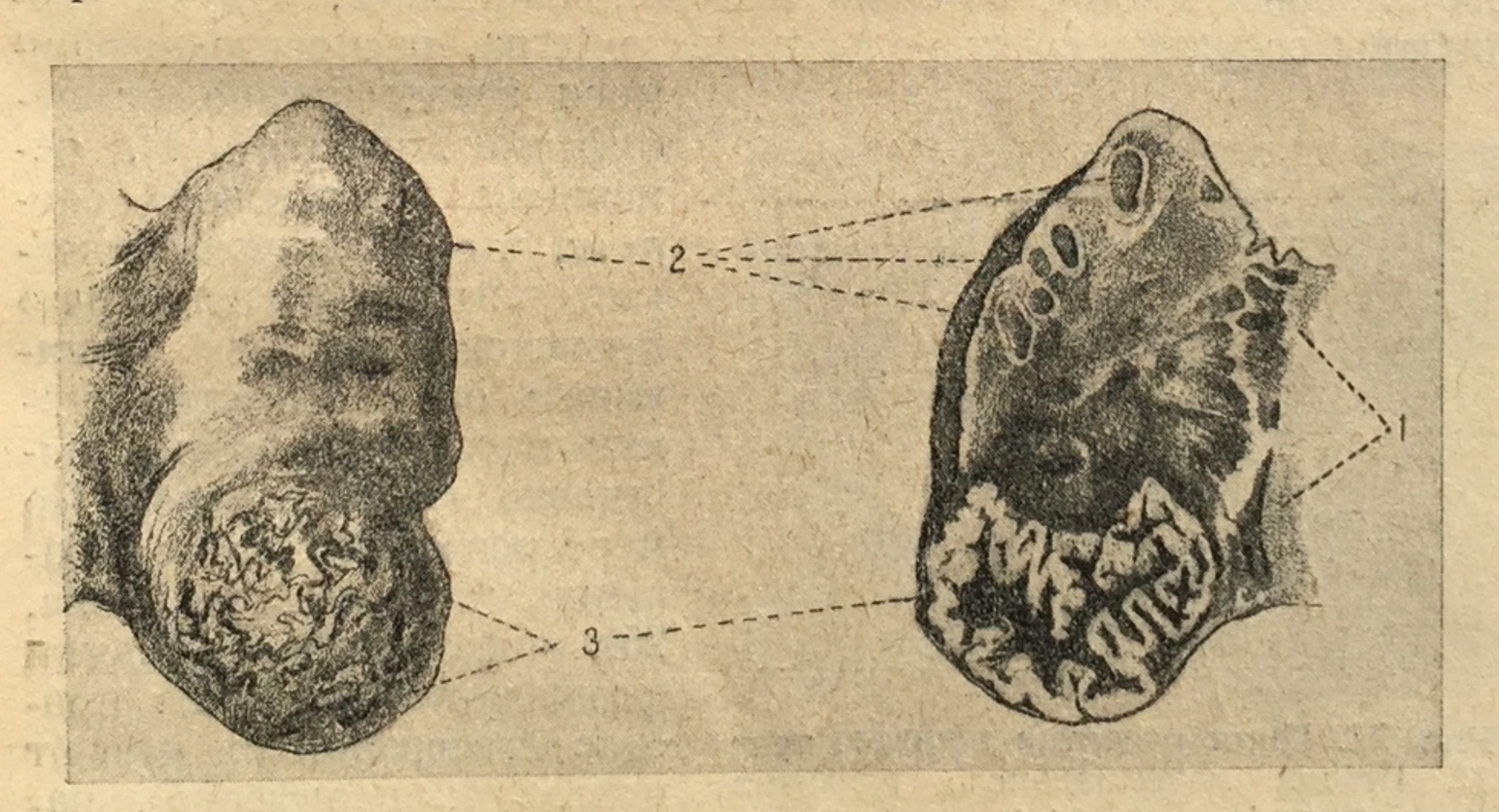


Рис. 22. Общий вид яичника с желтым телом при беременности. Слева — вид с поверхности яичника; справа — вид в разрезе. 1 — складка брюшины, 3 — «желтое тело», 2 — фолликулы.

развития. Складчатая капсула состоит из сильно разросшихся в виде сосочков лютеиновых клеток и гипертрофированных клеток membrana granulosa бывшего фолликула. На рис. 26 представ-

лен гистологический срез через «желтое тело». Особое внимание следует обратить на уже неоднократно упоминавшиеся «л ю т е и н о в ы е к л е т к и», которые, повидимому, служат местом образования полового гормона, продуцируемого «желтым телом».

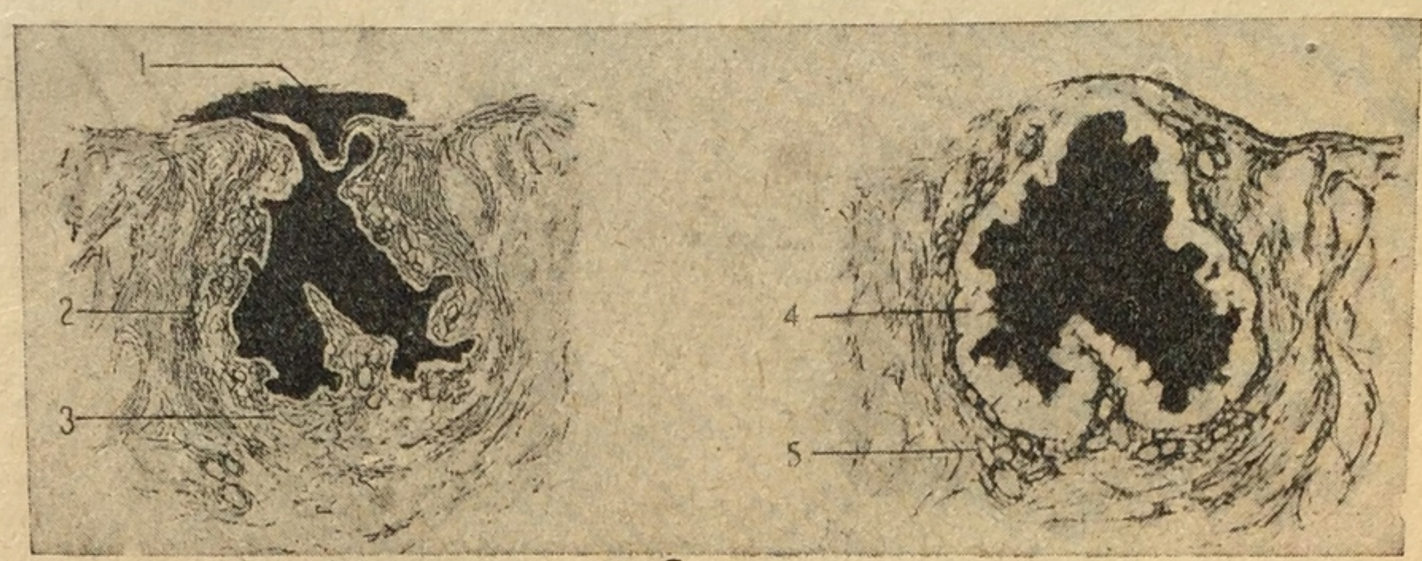


Рис. 23. Цикл развития желтого тела. I. Стадия свежего желтого тела: слева — свежий лопнувший фолликул на 8—14-й день после начала менструации; справа — образовавшееся на его месте желтое тело (вид на 16—18-й день после начала менструации).

Эти клетки отличаются крупными размерами, пузырькообразным ядром и тонкой сетью хроматина, содержащей в виде включения желтые мелкие капли. Характерно также, что скопления лютеиновых клеток обильно васкуляризированы, будучи пронизаны сосудами со стороны tunica externa, распространяющимися звездообразно от периферии к центру. На основании изложенного следует, что лютеиновые клетки э п и т е л и а л ь н о г о происхождения и составляют основную структурную массу, из которой построено «желтое тело». По мере регрессивного превращения желтого тела (рис. 25), лютеиновые клетки дегенерируют (обычно процесс дегенерации их идет от центра к периферии), наступает их гиалиноз, а желтое красящее вещество рассасывается и исчезает, образуется фиброзный рубец — corpus albicans, исчезающий через различной продолжительности время. Описанная картина характерна для обоих типов «желтого тела» — как ложного, так и истинного, с той лишь разницей, что в случае

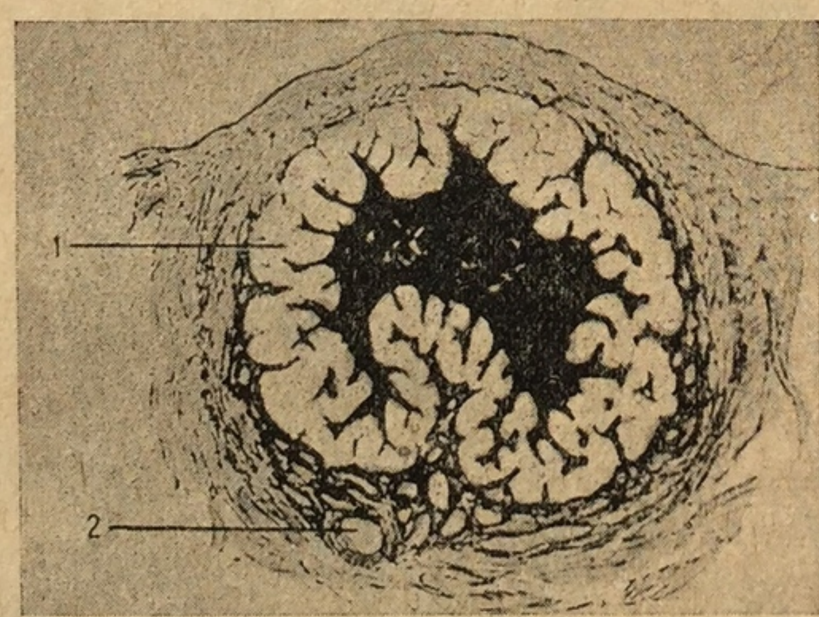


Рис. 24. Цикл развития желтого тела II. Стадия максимального развития ложного тела. Вид на третьей неделе после начала менструации.

последнего размеры лютеиновых клеток бóльше, клетки содержат массы красящего желтого вещества и жира, причем некоторые из них настолько гипертрофируются, что отторгаются от theca interna и лежат изолированно в строме «желтого тела». Вследствие беременности, все более или менее крупные фолликулы подвергаются атрезии, и из theca folliculi разрастаются лютеиновые клетки, но уже происходящие из соединительной ткани. Общая картина яичника, в сущности, является тогда морфологической картиной «ж е л т о г о т е л а», что иллюстрирует рис. 27.

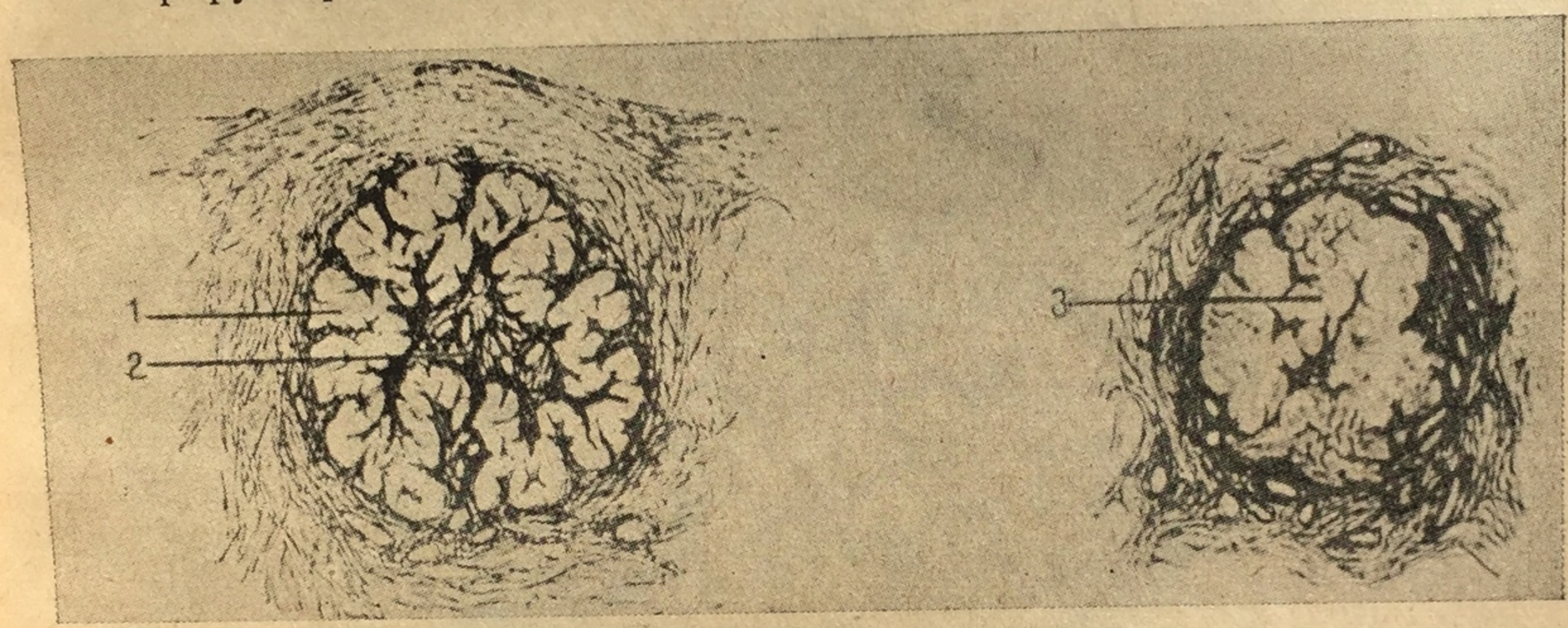


Рис. 25. Цикл развития желтого тела. III. Стадия инволюции и образования Corpus albicans. Слева — атрезирование желтого тела; справа — фиброзное превращение в Corpus albicans.

Таким образом, морфологические данные показывают, что при беременности важнейшую роль играет новообразованное «ж е л т о е т е л о», причем почти без преувеличения можно считать, что весь яичник при беременности претерпевает такие анатомические изменения (атрезия фолликулов), которые в целом приводят к единой его функции как «желтого тела». Из дальнейшего разбора физиологического механизма этот факт окажется не только совершенно естественным, но и принципиально необходимым, поскольку роль «желтого тела» как эндокринной интермиттирующей железы сводится к поддержанию и завершению беременности путем специфической гормональной регуляции этого физиологического процесса.

Резюмируя все изложенное, нетрудно притти к выводу, что местом, где по морфологическим данным происходит образование женских сексуальных гормонов, является ф о л л и к у л и образующийся из него особый орган — «ж е л т о е т е л о». В полном соответствии с этими морфологическими различиями клеточных элементов женской половой железы последняя продуцирует два различных половых гормона, действие которых в

известной мере стоит в связи с общей функцией тех участков яичника, где они образуются.

Начало созревания фолликулов в женском яичнике соответствует наступлению овуляции и половой зрелости женщин, оно представляет переходную ступень в ее жизни. С этого момента соматическая и духовная функции женщины подпадают под могучее господство половых гормонов, продуцируемых яичником, которые определяют женственные формы тела и ту перемену в психике, которая превращает ребенка в девушку и последнюю — в

Рис. 26. Микроскопическая картина желтого тела. 1 — бахромчатая оболочка — theca interna; 2 — остаток фибрина в центре желтого тела; 3 — оболочка желтого тела с лютеиновыми клетками.

мать. Из яичников исходит постоянный импульс чисто гуморальный, который приводит находившиеся долгое время в состоянии покоя половые органы ребенка к быстрому росту, развитию и полному созреванию. В течение 30—35 лет половой зрелости женщины ежегодно лопается около 14—18 фолликулов, что составляет в конечном итоге всего от 400 до 600 зрелых человеческих яиц на весь период половой зрелости. Из огромного числа фолликулов, находящихся в яичнике новорожденной, лишь незначительная часть достигает своего полного развития, большинство же их запустевает и погибает вследствие атрезии в любой стадии своего развития. Последний процесс, очевидно, является также своего рода физиологической регуляцией.

Заканчивая на этом очерк анатомических особенностей жен-

ской половой железы, которую, нужно отнести к «железам смешанной секреции», следует отметить, что в яичнике женщины лопание созревшего фолликула происходит через регулярный промежуток в 4 недели. Этот процесс течет строго периодически соответственно деятельности яичников, связанной с продукцией сексуальных гормонов; ряд исследователей [Гудман (Goodmann) и др.] приписывает ему волнообразный характер в виде периодических подъемов и падений всех жизненных процессов женщины. Ближайшим физиологиче-

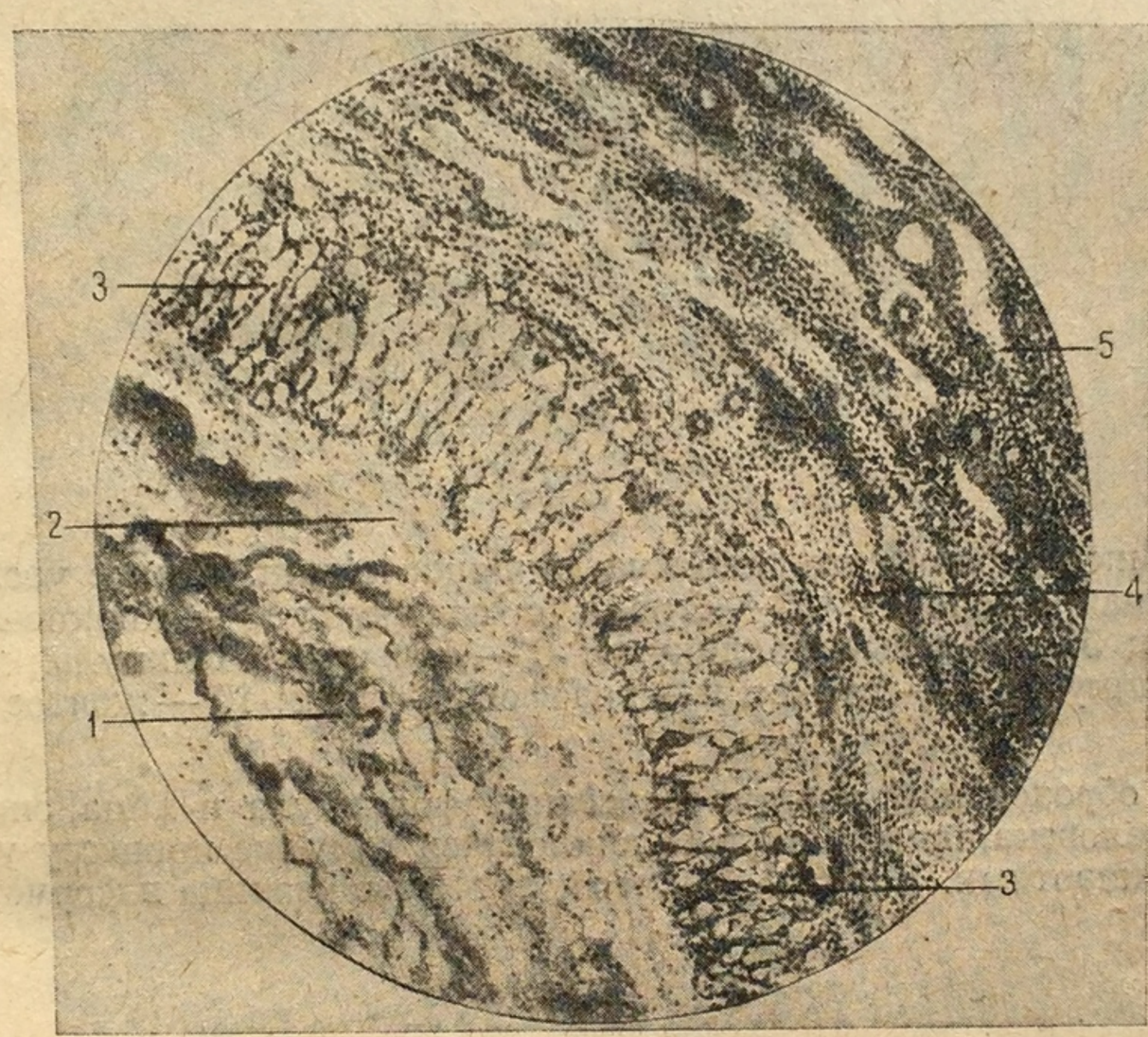


Рис. 27. Микроскопическая картина яичника в течение беременности. Атрезированные фолликулы, сплошь занятые лютеиновыми клетками. 1 — свертки фолликулярной жидкости; 2 — формирование ретикулярной ткани; 3 — слой лютеиновых клеток, заполнивших theca interna; 4 — theca interna; 5 — строма яичника.

ским проявлением этой периодичности является выделение крови из половых частей или менструация. У животных созревание яйца сопровождается гиперемией, набуханием и повышенной секрецией половых органов, доходящей у некоторых видов млекопитающих (обезьяны) до выделения крови. Все эти сопутствуемые общим возбуждением явления обозначаются словом «течка» (Brunst, Oestrum). Аналогичное «течке» животных явление представляет, следовательно, «менструация» женщин, наступающая регулярно через каждые 4 недели. У диких млекопитающих животных овуляция и течка, происходят с гораздо бо́льшими промежутками времени, иногда всего лишь один или два раза в год.

К подробному разбору физиологического процесса и сопоставлению отдельных его стадий с чисто морфологической картиной изменений, протекающих в женской половой сфере, я позволю себе перейти ниже.

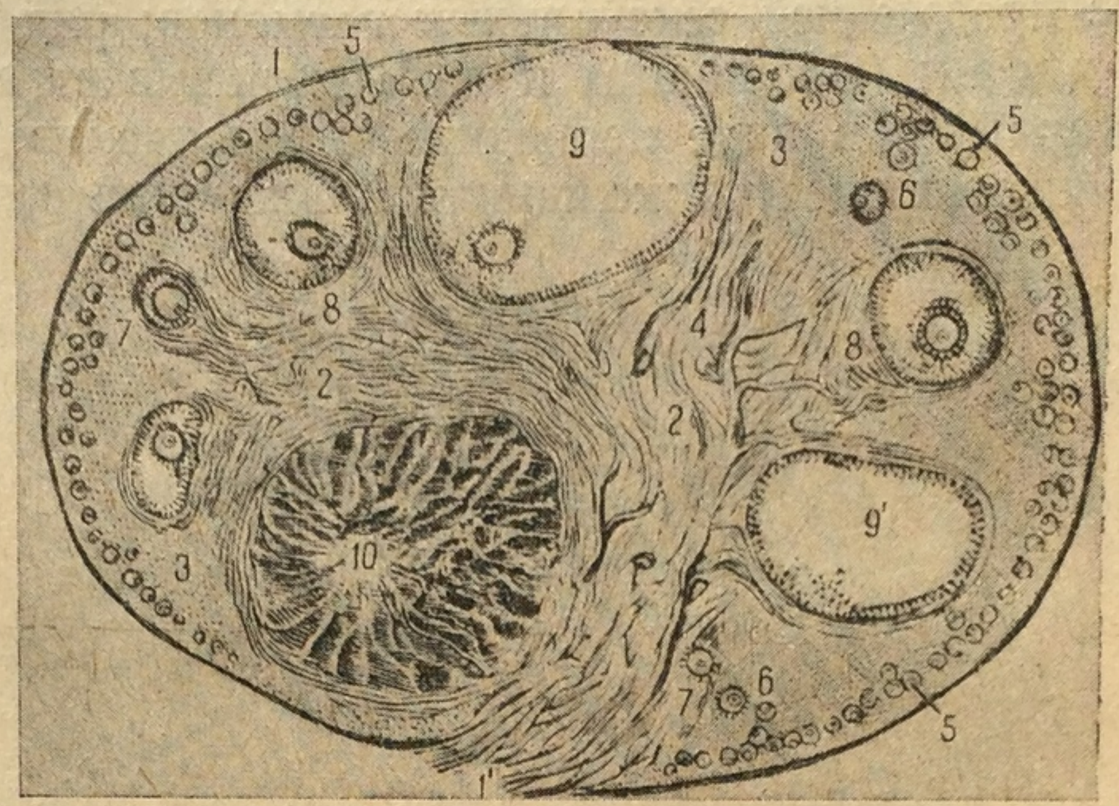


Рис. 28. Микроскопическая картина яичника кошки. Малое увеличение. 1 — наружная оболочка; 2 — строма с сосудами; 3 — корковый слой; 4 — сосуды; 5 — молодые фолликулы; 6 — большие фолликулы; 7 — зрелые фолликулы; 8 — то же; 9 — граафов пузырек; 10 — желтое тело.

Процесс образования, роста и созревания фолликула и яйца, описанный выше для человека, принципиально аналогичен тому же процессу у млекопитающих животных. Естественно, что имеет место разница в форме, харак-

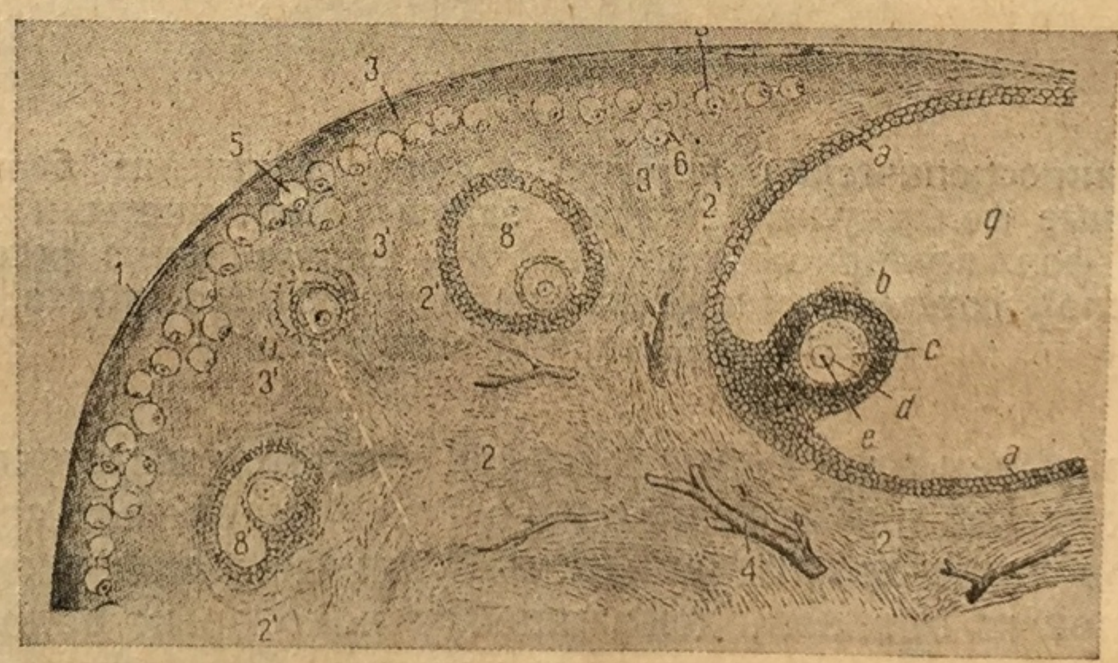


Рис. 29. Та же картина при большом увеличении. Обозначения те же. *a* — эпителий фолликула; *b* — cumulus oophorus, *c* — желток; *d* — зародышевый пузырек; *e* — зародышевое пятно.

тере и структуре морфологических элементов, из которых построен яичник животных и человека, но протекание процесса, и его чисто анатомические особенности по стадиям созревания совершенно аналогичны. На рис. 28 показан в малом увеличении разрез через яичник кошки; тот же

препарат при большом увеличении дан на рис. 29. Без особого труда можно различить здесь специфические клеточные элементы фолликула и образование «желтого тела». У свиней и обезьян морфологическое сходство этих элементов с человеком еще более близкое. У менее организованных животных картина все более отдаляется от человека, хотя та же принципиальная повторяемость и сходство имеют место. На рис. 30 показан «примордиальный фолликул» из яичника кролика с характерным, богатым хроматином яйцом.

Эндокринная функция половых желез у женских особей млекопитающих животных экспериментально доказана, так что и здесь можно говорить об одинаковом механизме функции описанных клеточных элементов женских половых желез.

Особенности топографической анатомии половых желез женских особей животных имеют тот практический интерес, что в биохимии для извлечения естественных сексуальных гормонов пользуются яичниками животных, чаще всего свиней. С другой стороны, физиологическая проверка действия половых гормонов и их стандартизация производятся также на животных

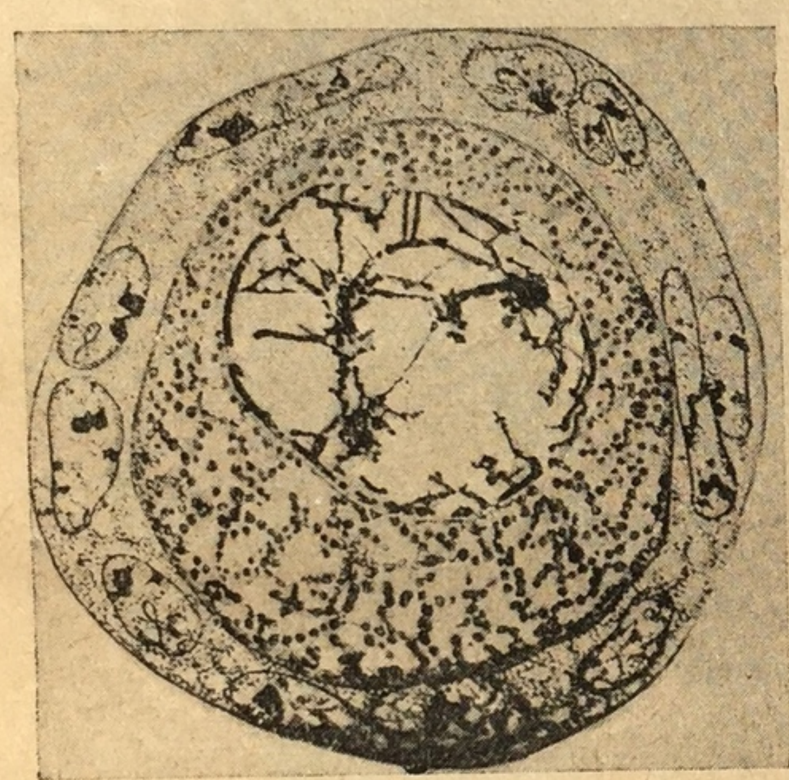


Рис. 30. Микроскопическая картина примордиального фолликула из яичника кролика по Винивартеру. Увеличение 1×1 400.

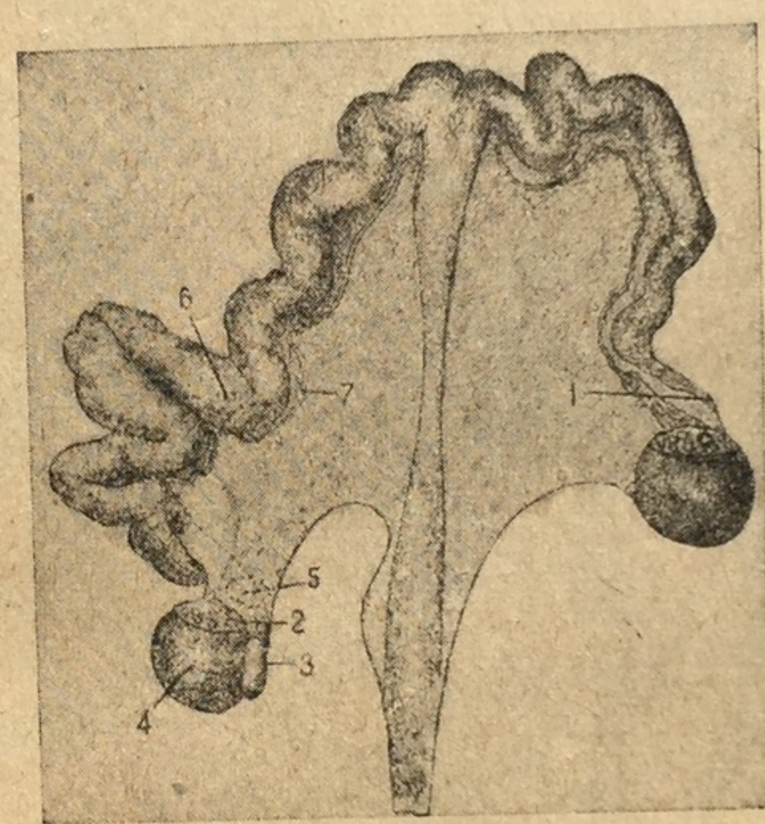


Рис. 31. Препарат истинного гермафродитизма у свиньи. 4 — яичко; 3 — придаток яичка; 2 — яичник; 8 — рог матки; 1 — труба.

(кролики, крысы, мыши). На последнем я не буду здесь останавливаться подробнее, так как соответствующий материал будет изложен и всесторонне освещен ниже, при разборе вопроса о физиологическом действии половых гормонов. Что касается топографии яичников у животных, то, поскольку обычно дело идет о трупном материале, нет нужды излагать тонкости топографии этого органа, находящегося в тазовой области, связанного складкой брюшины с рогами матки и без особого труда находимого у свиней и крупных животных. Следует скорее указать один важный вид аномалии, встречающейся часто у свиней и могущей поставить неопытного исследователя в затруднение: это случаи, описанные Копшем (Kopsch), Шимоновичем и др., истинного гермафродитизма или двуполости (Hermaphroditismus verus bilateralis) встречающиеся, однако, чаще у мужских особей. Здесь имеются зачатковые железы обоих полов у одного и того же индивидуума (рис. 31). В подобных случаях такие экземпляры следует исключать из опыта. У мелких животных, особенно неполовозрелых (кролики, крысы, мыши) ориентироваться в половых органах

представляет некоторые трудности, которые однако преодолимы, если в качестве топографической точки взять мочевой пузырь. Тогда по обеим его сторонам в малом тазу, часто в виде тонких нитей определяются половые органы, выделяющиеся двурогой маткой. Однако, в сомнительных случаях лучше обратиться к специалисту-животноводу или к специальным руководствам по анатомии мелких животных, из которых особенно можно рекомендовать работы Лонга и Эванса (Long—Evans), Штокарда (Stockard) и Папаниколау (Papanicolau).

На топографической анатомии женских половых органов нет необходимости здесь останавливаться, разве кроме общего указания расположения яичников в тазе (рис. 32) у взрослого женского трупа.

Рис. 32. Топография половых органов женщины. Общий вид нормального положения половых органов у половозрелой женщины (труп девственницы, петли кишек удалены).

Яичник расположен обычно на боковых стенках таза, тотчас же ниже входа в малый таз. Для биохимических целей взятие яичников от женских трупов имеет только тогда смысл, если речь идет о молодых половозрелых субъектах и если с момента смерти протекло не более суток. Удаляемые при операциях женские яичники обычно не являются нормальными или полноценными и не представляют поэтому интереса для целей выделения из них гормонов.

МУЖСКИЕ ПОЛОВЫЕ ЖЕЛЕЗЫ

Семенники, или яички (testis), представляют мужские половые железы, расположенные в мошонке, секрет которых состоит из высокоспециализированных мужских половых

клеток — сперматозоидов или семенных нитей. Размеры яичек примерно следующие (для половозрелого взрослого мужчины): продольный диаметр — от 4,0 до 5,5 см, поперечный диаметр — от 2,0 до 2,5 см. Вес колеблется в пределах от 22 до 30 грамм, причем одно из яичек может быть тяжелее другого. Общее представление об анатомических соотношениях у взрослого мужчины дает рис. 33, где показано левое яичко после вскрытия мошонки и серозного мешка.

Важным для понимания внутрисекреторной функции яичка является разбор его тонкого строения, общую ориентировочную картину которого дает рис. 34.

Железистое вещество яичка, красновато-желтого цвета, состоит из тонких нитей, разделенных на отдельные участки, обращенные своими основаниями к поверхности яичка, заключенной в плотную обо-

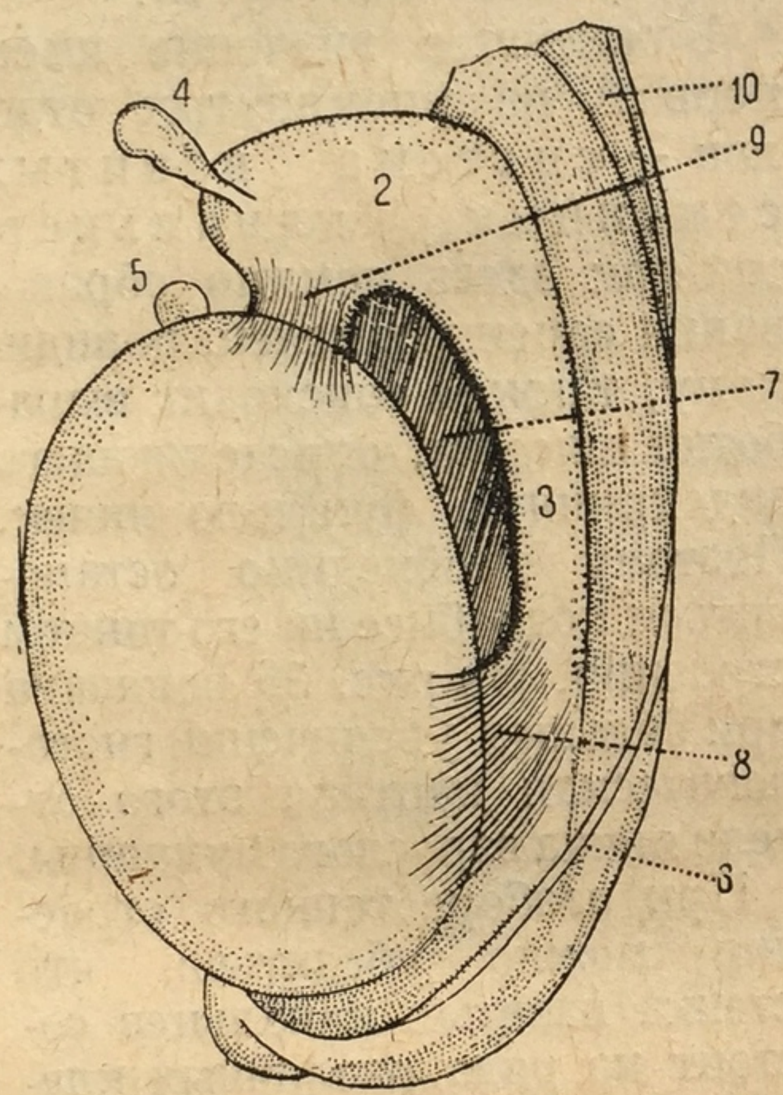


Рис. 33. Общие анатомические отношения мужской половой железы. Показано левое яичко с придатком без его оболочек. 1 — яичко; 2 — головка придатка; 3 — тело придатка; 4 — appendix придатка; 5 — appendix яичка; 6 — край оболочки яичка; 7 — синус придатка; 8—9 — связки; 10 — оболочка яичка.

Рис. 34. Схематическое изображение тонкого строения яичка. 1 — дольки яичка; 2 — rete testis; 3 — выносящие канальцы; 4 — проток придатка; 5 — побочные протоки; 6 — тело придатка; 7 — хвост; 8 — семявыносящий проток; 9 — проток Halleri; 10 — paradidym.

лочку (tunica albuginea), поверхность которой представляет зачатковый эпителий. Вершины пирамидальных долек железистой массы обращены к заднему краю, где albuginea образует весьма плотное разращение (mediastinum testis), от которого веером расходятся фиброзные тяжи и неполные перегородки. Таким путем все железистое вещество раз-

делено на дольки (lobuli testis), число которых доходит до 250—300. Они состоят почти исключительно из тонких семенных канальцев (tubuli seminiferi), внутри которых вырабатывается мужское семя. Рис. 35 показывает все эти соотношения на поперечном разрезе правого яичка.

Среди этих семенных канальцев различают два отдела: и з в и т о й (t u b u l i c o n t o r t i), несущий только одну функцию — выработку семени, и второй отдел — п р я м о й (tubuli recti), образующий в mediastinum сложную сеть так называемых rete testis Halleri. Этот отдел представляет собой начало выводящих семенных путей.

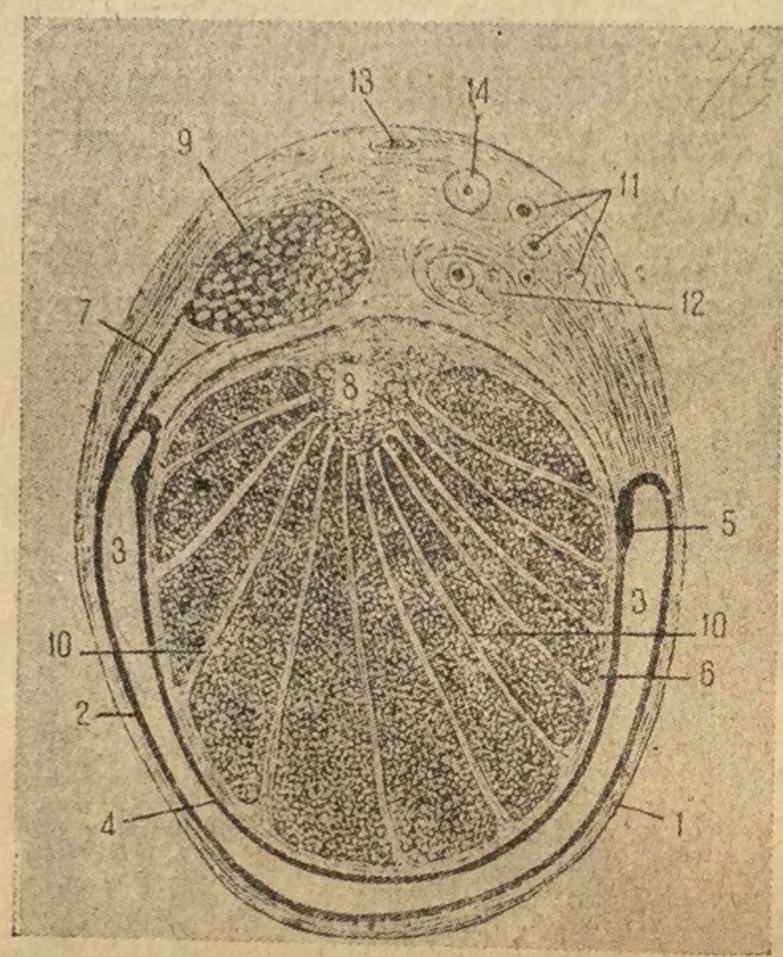


Рис. 35. Поперечный разрез яичка. 1 — tunica vaginalis comm.; 2 — tunica vaginalis propria; 3 — влагалищная полость; 4 — tunica albuginea; 5 — пограничная кайма; 6— дольки яичка; 7 — тяжи стромы; 8 — средостение; 9 — придаток; 10— septula testis; 11 — артерии; 12 — вены; 14 — семявыносящий проток.

Важнейшее значение имеет первый из упомянутых отделов — с и с т е м а и з в и т ы х с е м е н н ы х к а н а л ь ц е в, так как здесь помимо образования семенных телец, повидимому, также происходит выработка инкрета, определяющего эндокринную функцию яичек. Поэтому необходимо остановиться подробнее на его тонком строении. На рис. 36 показана при большем увеличении гистологическая картина этого отдела яичка взрослого мужчины.

При разборе тонкого строения можно убедиться, что стенка извитых канальцев состоит из ряда различных клеточных элементов: во-первых, из лежащих в несколько слоев п л о с к и х э н д о т е л и а л ь н ы х к л е т о к соединительнотканного происхождения; во-вторых, из основной мембраны; в-третьих, из многослойного, так называемого с е м е н н о г о э п и т е л и я, который находится либо в стадии покоя, либо в стадии размножения и высокой дифференцировки. Показанный на рис. 36 срез относится к стадии покоя, и здесь этот эпителий состоит из ряда круглых клеток.

В стадии деятельности, или с п е р м и о г е н е з а, когда дело идет об образовании зрелых семенных нитей и одновременно, повидимому, о в н у т р и с е к р е т о р н о й д е я т е л ь н о с т и, семенной эпителий претерпевает замечательные изменения. Цикл спермиогенеза приведен на схеме В а л ь д е й е р а (Waldeyer), показанной на рис. 37.

Прежде всего часть плоских клеток семенного эпителия превращается в особые, питающие спермии во время их развития, «поддерживающие» или «базальные клетки Sertoli»; другая, бóльшая часть превращается в семенные клетки; соответственно стадиям их развития можно установить послойное расположение: ближайшие к стенке клетки — основные или спермиогонии; следующий вышележащий слой состоит из материнских клеток или спермиоцитов, дающих начало дочерним клеткам — преспермидам и спермидам. Последние охватываются протоплазмой клеток Sertoli, которые снабжают их питательным материалом. Не останавливаясь здесь на деталях развития и созревания сперматозоида,

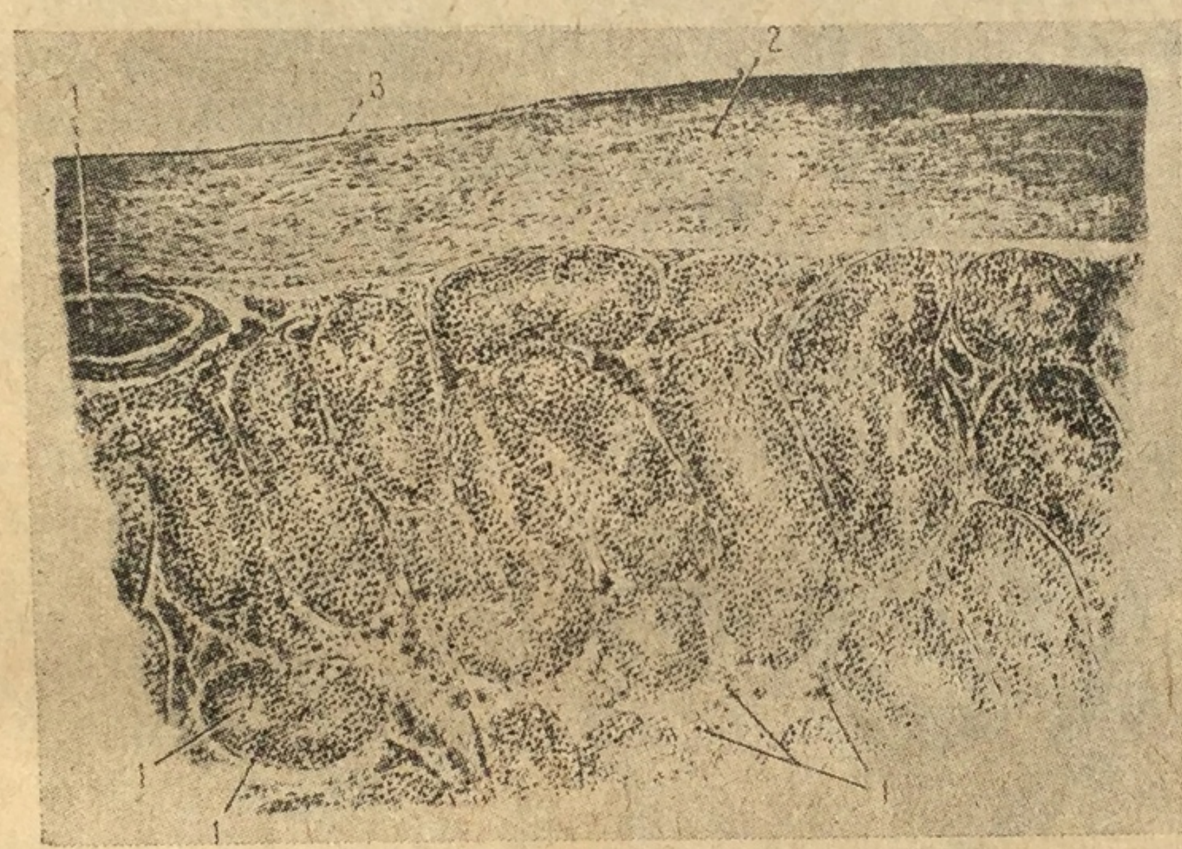


Рис. 36. Поперечный разрез яичка при большом увеличении. Система извитых семенных канальцев (1); оболочка albuginea (2); зачатковый эпителий (3).

я перейду к дальнейшей характеристике семенных канальцев. Отдельные канальцы, как видно из рис. 36, облечены соединительной тканью, которая называется промежуточной тканью (tunica propria) железистой паренхимы яичек. В ней находятся крупные, разрозненные, расположенные кучками, содержащие жировые, липоидные зерна, а также неизвестные включения открытые Рейнке (Reinke) «промежуточные клетки» или как их еще называют «интерстициальные клетки Лейдига». Они рассматриваются как остатки от канальцев вторичной почки и, им приписывается также участие в образовании «гормона мужской половой железы». Эти клетки схематически показаны на рис. 38.

Сперма взрослого мужчины, представляющая беловатую жидкость, состоящую из сложнейшей смеси различных морфологических элементов и жидкостей (клетки эпителия, лейкоциты, лецитин, секрет предстательной железы, Куперовских желез и пр.), содержит до 40% неорганических солей в плотном остатке. Из органических веществ в ней имеется множество различных белковых тел, липоидов и характерное, придающее ей специфический запах вещество — спермин, ничего общего с гормонами не имеющее. По подсчетам Лодэ (Lode) при однократном извержении семени у взрослого мужчины в

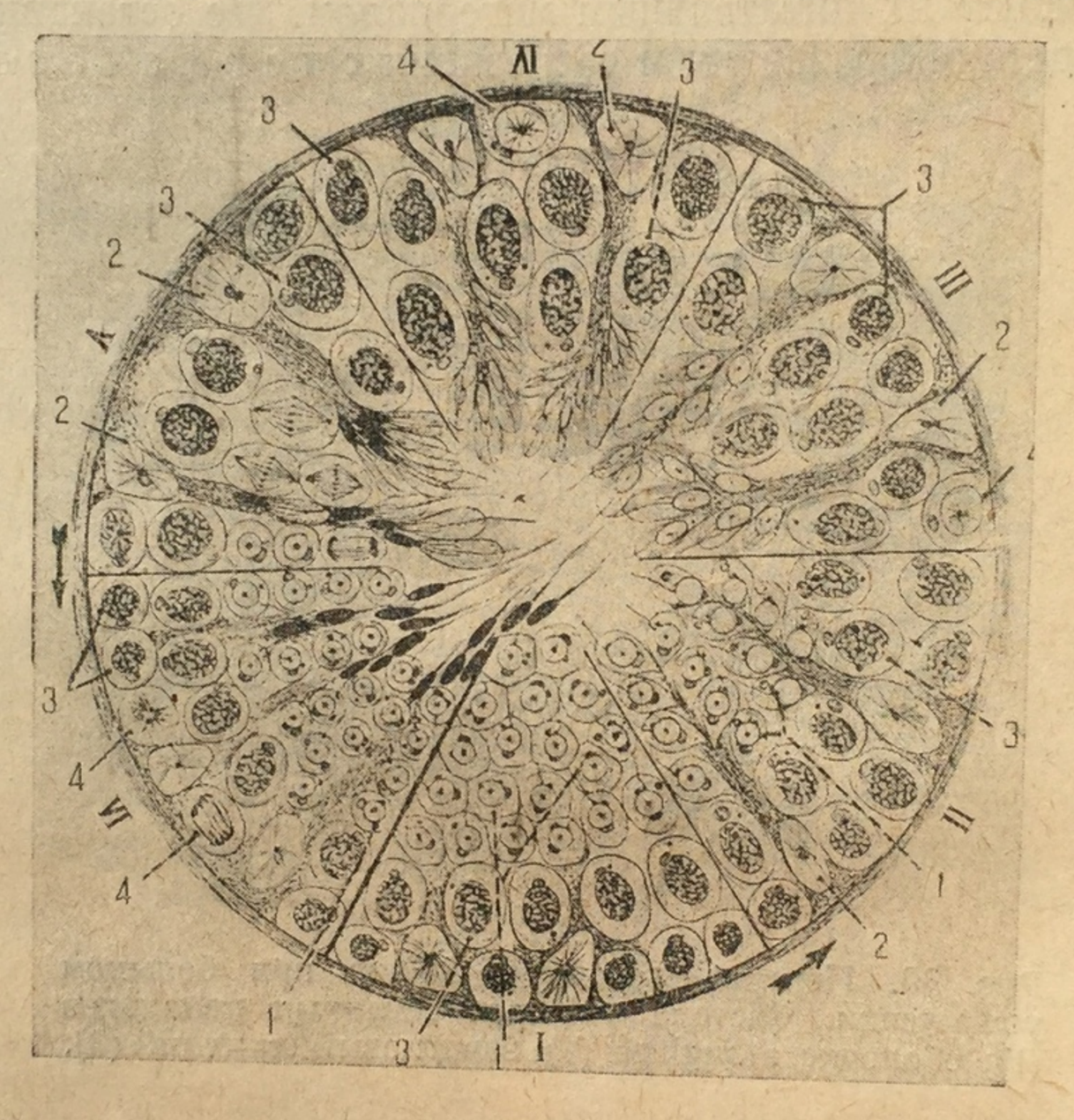


Рис. 37. Цикл спермиогенеза по Вальдейеру. Показан разрез через семенной каналец, причем в сегментах I по VI проходят различные стадии спермиогенеза (для наглядности). 1 — спермиды; 2 — клетки Sertoli; 3 — спермиоциты; 4 — спермиогонии.

сперме содержится до 230 миллионов семенных нитей (зрелых сперматозоидов).

Переходя к вопросу о том, какие морфологические элементы яичек принимают участие в продукции «полового гормона», т. е., следовательно, каким клеточным элементам присуща эндокринная функция яичек, приходится установить, что этот вопрос до сих пор окончательно решенным считаться не может и является предметом самых ожесточенных дискуссий, достигших своего апогея в 1921—1923 годах. Хотя физиологи-

ческие опыты с непреложностью установили и доказали внутреннюю секрецию яичек, необычайная сложность тонкого их строения, множество клеточных элементов, сосредоточенных в сравнительно малом пространстве, и, наконец, постоянная динамичность этого органа (спермиогенез), дающего в различные стадии деятельности самые разнообразные превращения клеток, — все это чрезвычайно усложняет морфологическую сторону вопроса и объясняет ту дискуссию, которая ведется по этому поводу. Достаточно хотя бы указать, что в монографии Гармса (Harms) насчитывается более 200 работ, посвященных вопросу о «промежуточных», так называемых «ZZ» клетках Лейдига.

Около 30 лет назад Ансель и Буэн выдвинули теорию, по которой продукция гормона яичками (точно так же и яичниками) имеет место не в половых клетках, но в особых «межуточных железах». Эти железы были идентифицированы для яичек как клетки Лейдига. Теория Анселя получила множество сторонников [Липшитц (Lipschütz); Тандлер и Гросс (Tandler — Gross) и др., а также Штейнах и вся его школа]. Однако, за последние годы эта теория была опровергнута рядом систематических, не только морфологических, но и физиологических исследований [Кейслер, (Keussler); Глей (Gley); Ослунд (Oslund;) Коренчевский; Стивэ (Stieve); Бенда (Benda); Краус (Kraus) и др.].

Рис. 38. Рисунки «промежуточных клеток Лейдига» (ZZ - клетки) с включениями по Рейнке.

На основании имеющегося экспериментального материала, промежуточным клеткам Лейдига (в дальнейшем будут обозначаться как «ZZ»-клетки) нельзя приписать исключительно эндокринную функцию, определяющую физиологический комплекс явлений, дающих в сумме понятие «мужественности», и, следовательно, нельзя считать их отдельным эндокринным органом, как это сделали Ансель и Буэн, Штейнах и др. Точно так же нельзя приписать им только трофическую функцию в смысле учения Плато (Plato) и его последователей.

Такие факты, как преимущественное нахождение «ZZ»-клеток под tunica albuginea яичек, в области rete testis, а также совсем вдали от семенных канальцев, говорят за то, что трофическая функция этих клеток если и осуществляется, то не в

смысле прямого контакта с семенными канальцами, но через кровяное русло. Роль этих клеток сводится, повидимому, к тому, чтобы доставлять половым клеткам питательный материал. Однако, это не есть их исключительная функция, так как в яичках человека не удается установить прямой закономерности между состоянием семенных канальцев и количеством «ZZ»-клеток. Важным доказательством в пользу эндокринной функции «ZZ»-клеток является эксперимент Берблингера (Berblinger), который показал, что при удалении гипофиза эти клетки исчезают из яичек, в то время как при других формах атрофии яичек, не обусловленной эндокринным воздействием (например, действие лучей Рентгена), они, наоборот, как правило, разрастаются. На рис. 39 и 40 показана гистологическая картина таких яичек. Хорошо видно полное уничтожение семенных клеток, отсутствие спермиогенеза при оставшихся интактными клетках Sertoli и резко размножающихся «ZZ» клетках (рис. 40). Если это сопоставить с известным фактом, что при стерилизации Рентгеном вторичные половые признаки не исчезают, дело идет очевидно об эндокринной функции «ZZ» — клеток. Все изложенное приводит поэтому к мысли, что «межуточные клетки Лейдига» («ZZ» — клетки) несут двоякую функцию трофическую и эндосекреторную, продуцируя специфический инкрет. По данным Коренчевского, однако, несомненно также, что основные семенные клетки (возможно также и базальные клетки Sertoli) продуцируют мужской половой гормон.

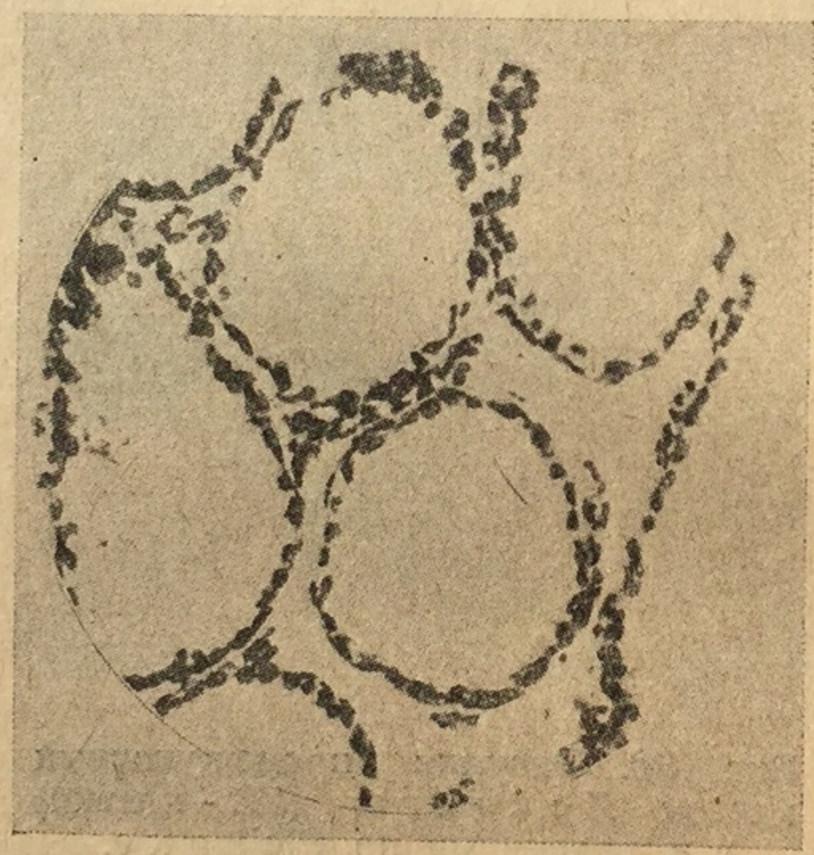


Рис. 39. Микроскопическая картина яичек морской свинки после облучения рентгеном (40 мин.). Семенные клетки разрушены, сохранились клетки Sertoli и «ZZ-клетки». (Малое увеличение.)

В общем, из изложенного материала видна аналогия с отношениями, которые имеются в женской половой железе, с той лишь разницей, что найденная там морфологическая картина вполне расшифрована путем сопоставления с данными физиологического эксперимента, чего к сожалению нельзя сказать о разбираемом случае. Причиной этому, как уже говорилось, является необычайная сложность тонкого строения яичка по сравнению с яичником.

Резюмируя весь материал, следует признать наиболее досто-

верным, что в эндосекреторной функции яичка принимает участие и паренхима железы — основные семенные клетки (аналогично фолликулам яичника), и межуточная система — «промежуточные клетки Лейдига» (аналогично лютеиновым клеткам «желтого тела» в яичнике). За это говорят последние работы Лакера, приведшие к открытию в 1935 году второго мужского полового гормона.

Аналогичные, повидимому, отношения имеют место и у животных. Что касается вопросов топографической анатомии, то она достаточно ясна и не представляет затруднений в тех случаях, где у животных имеются «опущенные яички», находящиеся в мошонке или «кармане яичек». Важно учитывать в этих случаях рефлекс M. cremaster и втягивание яичка в брюшную полость, вследствие чего кастрация животного может быть неудачной. Прекрасные анатомические данные, особенно по мелким животным, можно найти

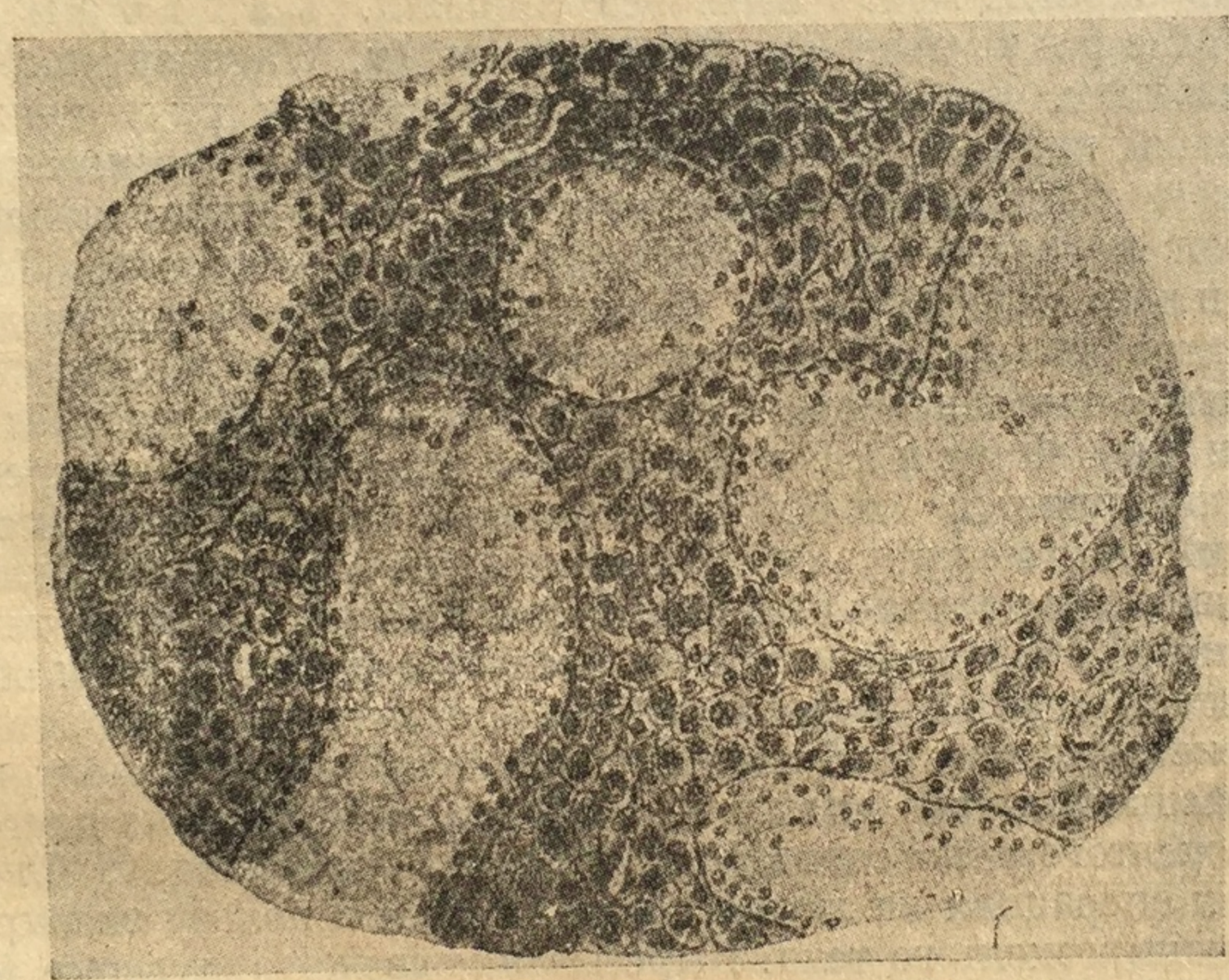


Рис. 40. Микроскопическая картина при большом увеличении при атрофии яичка после перерезки Vas deferens по Bouin-Ancel. Семенные клетки погибли, наличие сильного разрастания «ZZ-клеток» и клеток Sertoli.

в монографии Гармса (l. c.), а также в работах Занда (Sand), Теппера и Перкуна (Toepper-Perkuhn) и Злотопольского. При работах, связанных с биохимической обработкой яичек, следует принимать во внимание, что яички должны быть освобождены от своих оболочек, которых у человека восемь и около того же количества — у крупных млекопитающих животных.

2. Физиологическая функция яичников

СХЕМА ШЕЛЛЕРА (SCHOELLER)

Выделительная функция яичников понятна уже из разбора изложенных выше анатомических особенностей этого органа. Она заключается в выделении женского яйца из созревшего фолликула в яйцепровод, в целях его оплодотворения мужскими семенными тельцами. Подробный разбор этого процесса не стоит в прямой связи с темой настоящей работы, и потому на нем останавливаться нет оснований. Здесь наибольший интерес представляет другая функция женских половых желез — эндокринная.

Функция внутренней секреции яичников с непреложностью вытекает из многочисленного экспериментального материала, который вкратце может быть резюмирован. Гальбан (Halban), Аберлэ (Aberle), Вагенен (v. Wagenen) доказали на обезьянах, что удаление яичников ведет к ряду тяжелых нарушений нормального состояния организма и, прежде всего, к полному прекращению менструации. Имплантация удаленных яичников в другое место тела [Нельсон (Nelson), Дель-Кастилло (Del-Castillo), Фельс (Fels) и др.] или введение экстрактов из них (Белов) восстанавливают менструации, а удаление имплантированных яичников снова их прекращает. Борн и Френкель считают, что железой внутренней секреции является «желтое тело», вызывающее периодический цикл менструаций. В пользу этого говорят наблюдения, показывающие наличие постоянной связи между «желтым телом» и слизистой оболочкой матки — отдельные фазы развития обоих находятся всегда в полном соответствии, так что, например, стадия предменструального набухания обнаруживается в момент полного расцвета corpus luteum и, наоборот, прекращение деятельности «желтого тела» совпадает по времени с menstrua. Наблюдения при операциях на людях говорят также в пользу эндокринной функции желтого тела. Вырезывание свежелопнувшего фолликула и предотвращение этим развития «желтого тела» ведет к выпадению очередной менструации. Вырезывание уже развитого «желтого тела» вызывает немедленный аборт и преждевременные менструации. Удаление яичников в детском возрасте приостанавливает развитие генитальной системы и ведет к аплязии и даже полной атрофии матки. Из новейших исследований необходимо остановиться на работах Кауфмана (Kaufmann), который у кастрированных женщин получил физиологическую пролиферацию матки дачей химических веществ, выделенных из яичников свиней и из мочи беременных, с дальнейшим превращением ее в секреторную фазу. Прекращение дачи этих веществ привело к отторжению искусственно превращенной слизистой и к менструации такого кастрата. Те же результаты получил и Бушбек (Buschbeck).

Из приведенных наблюдений ясно вытекает, что яичники действуют путем внутренней секреции, образуя и сецернируя какие-то вещества в кровь, с которой они разносятся по всему организму. Старинный взгляд Пфлюгера (Pflüger) и других, отрицавших эту функцию яичников и полагавших, что функция матки регулируется только нервным путем, в настоящее время может быть совершенно оставлен. Также несправедливым оказался взгляд Борна и Френкеля, что эндокринная функция яичника принадлежит только «желтому телу». Старлинг (Starling) блестящими опытами смог доказать, что яичники своей внутренней секрецией влияют не только на первичные половые признаки, но и на вторичные: они определяют процесс лактации, вызывая ее при определенных условиях даже у девственниц. Химическая корреляция между молочной железой и половыми железами доказана следующими опытами: у животных с оставленными яичниками удаляются и трансплантируются в другое место молочные железы (гетеротопия). Несмотря на это, при беременности этих животных наступала после родов лактация. С другой стороны, если у беременного животного прервать беременность, удалив матку, яичники, вообще весь половой аппарат, то развитие молочных желез приостанавливается и лактации не наступает; молочные железы возвращаются к своему первоначальному состоянию, бывшему до беременности. Однако, если та же операция проделана во второй половине беременности или в конце ее, то хотя дальнейшее набухание и развитие железы приостанавливается, тем не менее лактация наступает. Из этих опытов нетрудно сделать вывод, что гормон, который вызывает указанные изменения молочной железы, находится или в яйце, или в яичнике и из него переходит в кровь матери, а оттуда — в молочную железу. Очевидно, что после родов вещество перестает уже попадать в молочную железу, его выделение закончилось и результатом этого является лактация. Этот гормон имеет громадное активирующее значение для морфологических прогрессивных изменений железы, вызывая ее специфически направленный организованный рост. Баш (Basch), пересадив под кожу виргинальной собаке яичники от беременной суки, получил у первой усиленное развитие молочных желез, как при беременности. Дача в дальнейшем той же собаке вытяжки из плаценты привела к таким же изменениям альвеол молочных желез, как при беременности.

Многочисленные попытки выделить в чистом виде гормон яичников [Зейтц—Винц и Фингергут (Seitz—Wintz—Fingerhut), Френкель и Герман, Фелльнер, Шредер—Гербиг (Schröder—Goerbig), Штейнах (Steinach), Гутман (Gutmann), Пэн (Payne), Тэйр (Thayer), Дуази (Doisy), Моррелль (Morrell), Франк (Frank), —Парк—Беллерби (Parkes—Bellerby), Мас-

саца (Massazza) и др.] дали смеси веществ, среди которых несомненно находился искомый гормон, оказывавший специфический физиологический эффект течки у животных. Окончательное доказательство эндокринной функции яичников и в частности фолликулов и «желтого тела» было дано Бутенандтом (Butenandt), который выделил в химически чистом виде женские половые гормоны и провел синтез одного из них. Этим было положено начало новой эпохе в развитии химии и биохимии половых гормонов.

Из всего вышеизложенного вытекает, что яичники, выполняя выделительную и эндокринную функцию в нормальном организме, являются железой смешанной функции.

Рассматривая только эндокринную функцию яичников, можно установить по роду выделяемых ими гормонов — фолликулярному, продуцируемому фолликулами, и гормону беременности, образующемуся в результате функции «желтого тела», — характерные физиологические изменения, которые эти гормоны вызывают в женском организме.

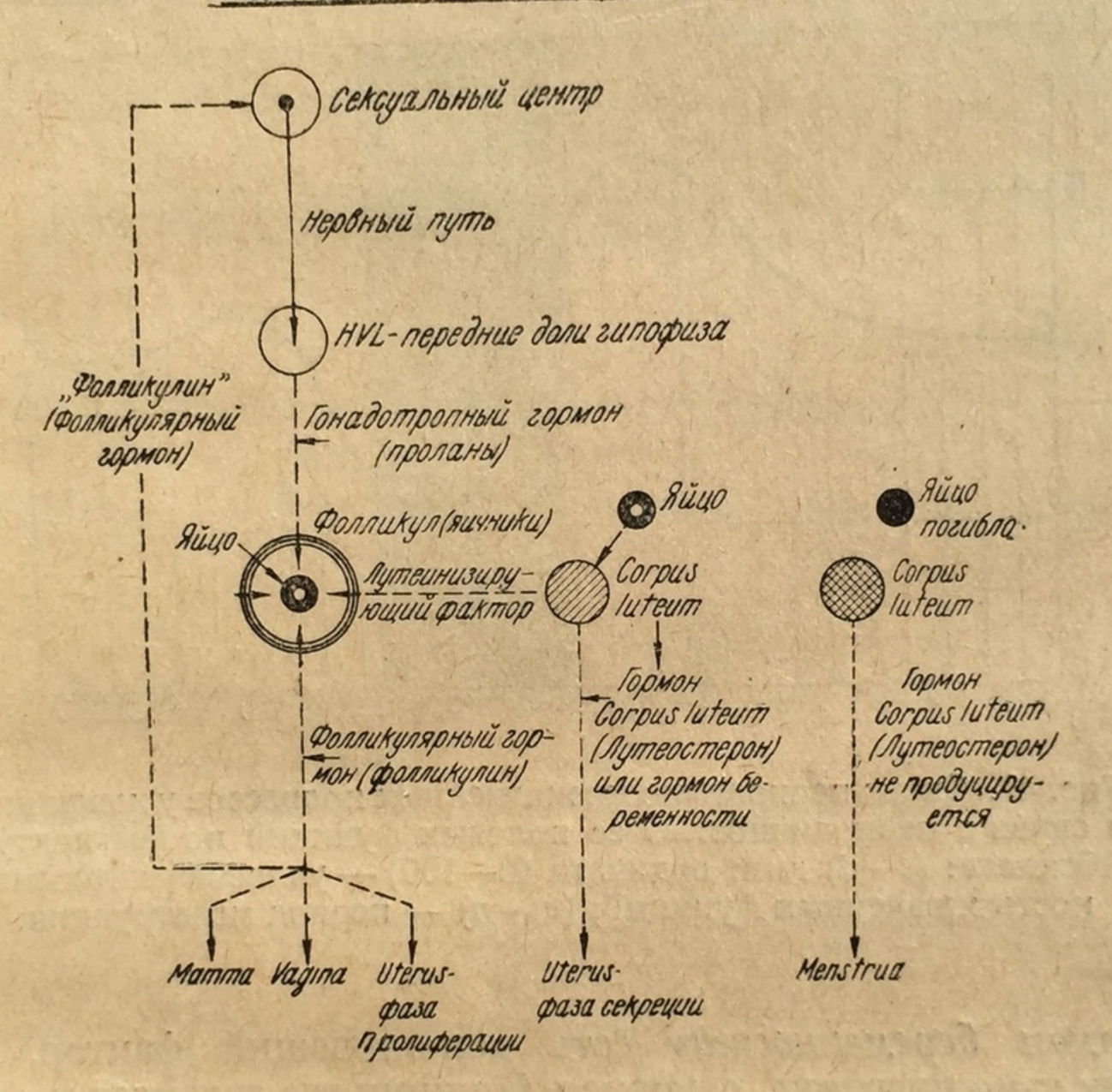
Лучшее выражение эндокринной функции яичников дает схема Шеллера (Schoeller), который исходит из экспериментальных, окончательно установленных фактов.

Шеллер прежде всего принимает как основную посылку классическое учение Роберта Мейера (Robert Meyer) о примате яйца; образование и сохранение яйца обусловливает образование и функцию corpus luteum, а не наоборот. Далее, на основании работ Фишера (Fischer), Эванса (Evans), Гольвега—Дорна (Hohlweg—Dorn) и собственных наблюдений Шеллер устанавливает, что наступающее при кастрации изменение «передней доли» гипофиза (HVL) зависит от усиления продукции так называемого «гонадотропного гормона» причем, эта чрезмерная продукция, безусловно, может быть тотчас же подавлена дачей половых гормонов.

Отсюда следует естественный вывод, что гонадотропные гормоны мобилизуют сексуальные гормоны, которые обратной дачей или при чрезмерном накоплении тормозят продукцию первых. Шеллер показал, что это тормозящее действие половых гормонов может осуществляться только на интактный гипофиз и отнюдь не имплантированный, что говорит, следовательно, за то, что эта регуляция осуществляется не непосредственно, гуморальным путем, но должна проходить по нервным путям, через «сексуальный центр», который Гольвег и Юнкман (Hohlweg—Junkmann) предполагают в среднем мозгу. Тогда, очевидно, падение высоты нормального уровня содержания сексуальных гормонов в крови

приводит к возбуждению нервными путями «сексуального центра», откуда дается сигнал на гипофиз и наступает усиленная продукция «гонадотропных гормонов», мобилизующая гормоны пола и выравнивающая, следовательно, их содержание в соках организма.

Чрезмерное действие гонадотропных гормонов ведет к «лутеинизированию фолликула», его дегенерации и, следовательно, уменьшению продукции фолликулярного гормона.



Этот механизм получил еще большее подтверждение работами Theel'я, показавшего, что повреждение сексуального центра в мозгу может привести к инфантилизму. Вполне установленным можно считать, что весь физиологический половой цикл женщины обусловлен двумя сексуальными гормонами, вырабатываемыми яичником. Оба гормона дополняют друг друга своим физиологическим действием, а характер этого действия был доказан непосредственно на человеке еще работами Кауфмана.

Все изложенное Шеллер выражает «схемой женского полового цикла», которую надо признать наиболее удачной из всех имеющихся в настоящее время схем

подобного рода и которая конкретно определяет характерные признаки физиологического действия женских сексуальных гормонов.

Детальное рассмотрение приведенной схемы позволяет не только раскрыть гормональный механизм женского полового цикла, но также установить то характерное физиологическое действие на женский организм, которое оказывают женские сексуальные гормоны.

«*Фолликулярный гормон*» есть основной гормон, который обусловливает «тонус женственности», и регулирует менструальный цикл женщины или течку — у животных.

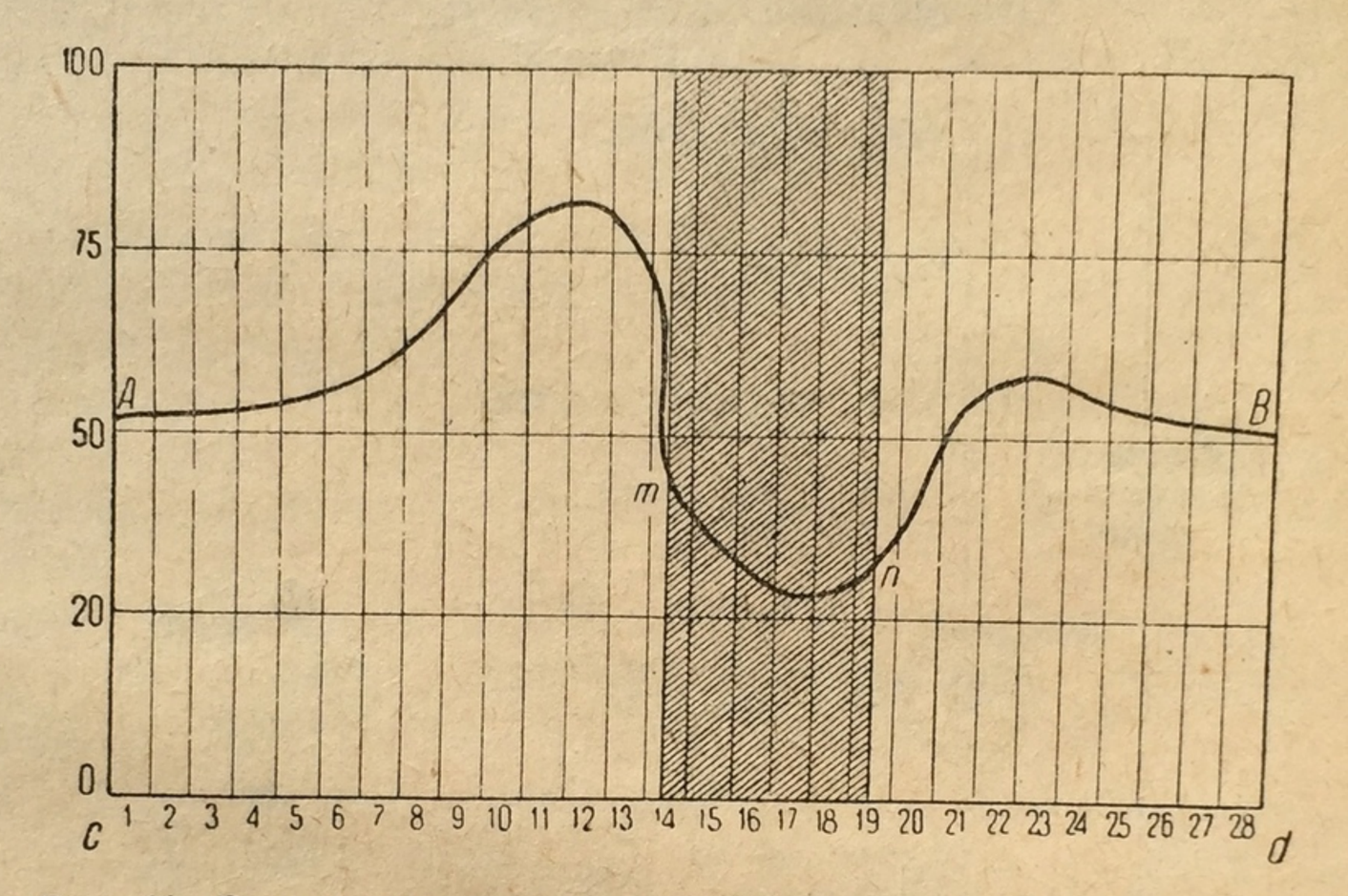


Рис. 41. Схема периодичности жизненных процессов у женщины в связи с периодичностью ее половых функций по Гебгардту. Абсцисса: (*c—d*) дни; ордината (0—100) — условная интенсивность жизненных функций; (*m—n*) — период менструации.

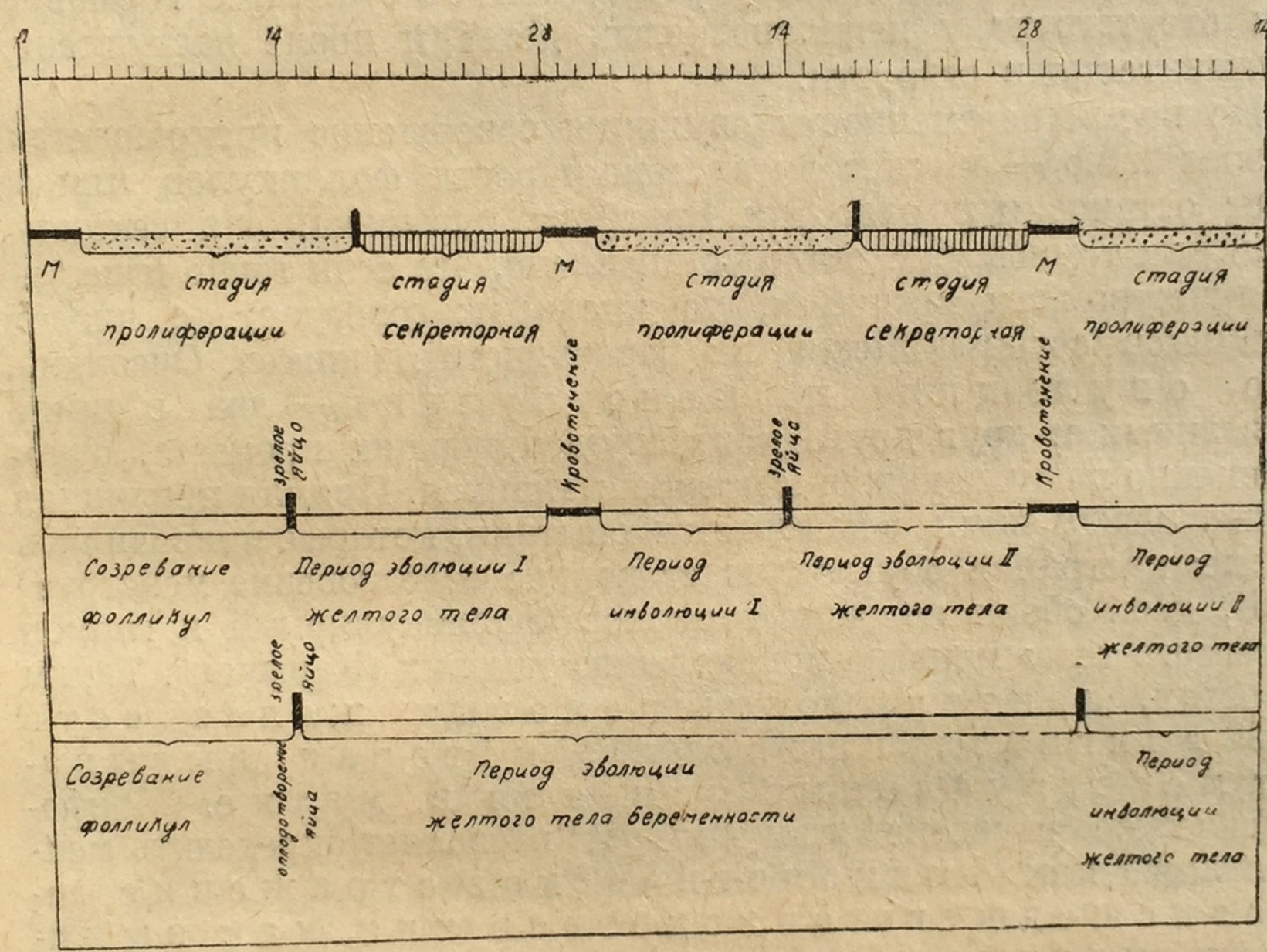
«*Гормон беременности*» есть дополняющий фактор, и как говорит само название, основная функция его сводится к регуляции и поддержанию беременности при условии, если яйцо оплодотворено. Прекращение его продукции связано с дегенерацией corpus luteum в corpus albicans и обусловливает наступление менструаций.

Оба гормона по существу направляют свое физиологическое действие на подготовку организма женщины к беременности и поддержанию таковой. Первую часть этой задачи несет по преимуществу «фолликулярный гормон», а вторую — «гормон беременности». Комбинированное действие обоих определяет специфический для женского организма волнообразно протекающий половой цикл менструаций. Общность механизма физиологического эффекта обоих гормонов заключается в том, что оба они представляют собой специфические химические факторы организованного роста, напра-

вленные на вполне определенные объекты живого организма.

Периодически появляющиеся, повторяющиеся через определенные, строго закономерные промежутки времени кровянистые выделения из влагалища у половозрелых женщин, называемые «менструациями» (menstrua), представляют собой лишь частичное проявление, наиболее заметный признак некоторого гораздо более интенсивного процесса, который стоит в причинной связи с созреванием яйца и который захватывает весь организм женщины. Эта периодичность указанного процесса определяет своеобразное течение всех наиболее важных жизненных процес-

Схема менструального периода женщины



сов женщины с их различной интенсивностью в течение всего периода половой зрелости. Каждая фаза такого волнообразного течения по своей продолжительности равняется в общем одному менструальному интервалу (Гебгардт). Так, период перед менструацией характерен резким повышением всех функций организма, подъемом энергии вообще, в то время как второй период сопровождается ослаблением всех жизненных процессов. Переход от первого периода ко второму совпадает с менструацией. Характерно, что у детей (до половой зрелости) и у стариков (в послеклимактерическом периоде) такого волнообразного течения жизненных процессов, являющихся, как мы видим, парал-

лельной функцией половых желез, нет. Изложенное может быть наглядно изображено в виде условной кривой (рис. 41), которую предложил Гебгардт (Gebhardt).

Решить вопрос о причине описанного выше колебания жизненных процессов и менструального кровотечения у женщины можно только, если рассмотреть соотношения и причинные связи между процессом овуляции и процессом менструации. Исчерпывающую картину дает приводимая схема связи менструации с образованием corpus luteum.

Эта схема понятна без дальнейших объяснений, если вспомнить те особенности анатомического строения яичника, которые были изложены выше. Следует также учесть то обстоятельство, что процесс овуляции совпадает с процессом полового созревания и, одновременно, с заметной продукцией сексуальных гормонов. Он отсутствует у неполовозрелых детей и после наступления климактерия в старости.

Во время беременности овуляция совершенно прекращается, безразлично — за счет ли задержки роста фолликулов или за счет остановки в развитии Граафова пузырька. На секциях женских трупов уже давно установлено, что если точно известно количество всех месячных, то число их совпадает, с числом рубчиков (corpus albicans) на поверхности яичников. Очевидно, что овуляция и менструация — два взаимно связанных и друг друга контрапунктирующих процесса, одновременно начинающихся и прекращающихся. Прямая причинная связь между ними доказывается опытами, которые приводились выше: кастрация обусловливает полное исчезновение менструаций, дача обоих половых гормонов (фолликулярный и гормон «желтого тела» приводит к появлению таковых (Кауфман). Таким образом, деятельность половых желез есть та двигательная сила, которая вызывает менструальные явления в матке. Морфологическое изучение этих явлений позволяет определить менструацию как физиологическое отражение происшедшего оплодотворения, как выкидыш неоплодотворенного яйца.

Весь предменструальный период морфологически (набухание слизистой оболочки), и физиологически (овуляция), является ни чем иным, как подготовкой женского полового аппарата и связанных с ним органов (молочные железы) к восприятию и внедрению оплодотворенного яйца, это есть своего рода создание физиологически идеальных условий для осуществления беременности. В самом деле, разрыв зрелого фолликула обычно происходит в течение первых двух недель после менструации, т. е., следовательно, в предменструальный период следующей менструации. Если яйцо за это время оплодотворилось, то, попадая через трубы в матку, оно всегда найдет для своего внедрения уже подготовленную слизистую оболочку.

Процесс менструации может быть представлен тогда следующим образом.

Нормальный менструальный период составляет для половозрелой женщины 28 дней, считая от первого дня первого периода до первого дня начала следующих менструаций. Этот период можно разбить на фазы, как это показано на схеме (стр. 47). Первая фаза обнимает первые 10—14 дней после имевшейся менструации. За этот период времени происходит созревание и лопание фолликула, который продуцирует «фолликулярный гормон», действующий на половой тракт и вторичные половые признаки — наружные половые органы (vulva), влагалище (vagina); молочные железы получают тургор, а в матке происходит специфическое превращение слизистой, которое обозначается как «фаза пролиферации слизистой матки» (рис. 42). Характерными признаками этого состояния слизистой являются сильное разрастание ее в ширину и состояние желез слизистой матки — они удлиненные, эпителиальная секреция их отсутствует.

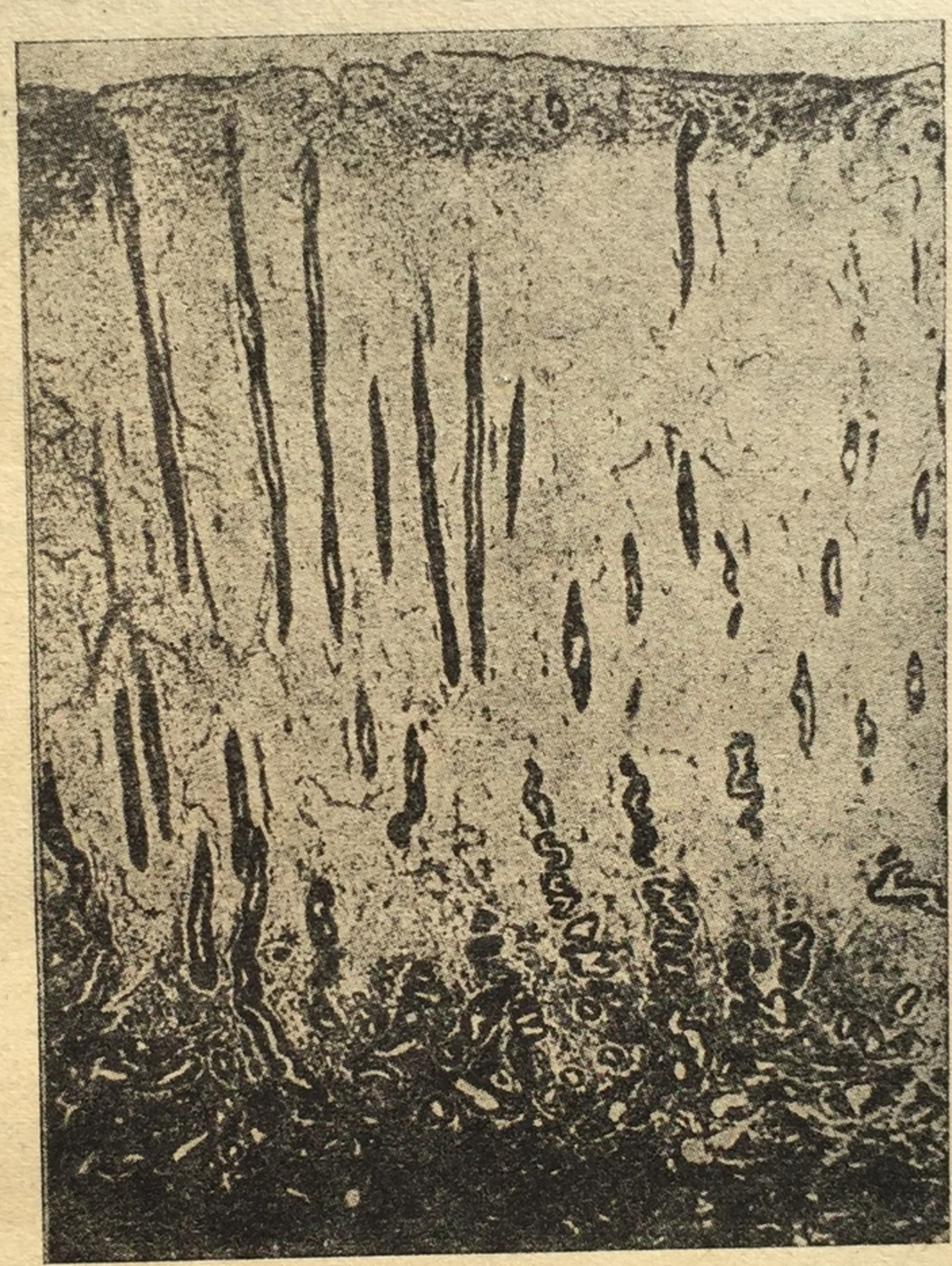


Рис. 42. Первая фаза превращения слизистой матки, или «фаза пролиферации». Железы матки удлиненные, эпителиальная секреция отсутствует. Этой стадии соответствует вполне зрелый и только что лопнувший фолликул.

Вторая фаза занимает время до начала кровотечения, т. е. около 10 дней, непосредственно предшествующих выделению кровянистых масс из матки. Этот период соответствует началу эволюции «желтого тела», образующегося из лопнувшего фолликула, и появлению вместо «фолликулярного

гормона» второго, биологически совершенно отличного и вполне самостоятельного женского сексуального гормона — «гормона желтого тела», или «гормона беременности». Этот гормон, и именно он, обусловливает соответствующее этому периоду превращение слизистой матки из состояния пролиферации в «фазу секреции». На рис. 43 и 44 показана секреторная фаза слизистой матки, или, как ее называют еще, «предменструальная слизистая», образовавшаяся под действием гормона corpus luteum.

Рис. 43. Вторая фаза превращения слизистой матки, или «фаза секреторная». Железы гиперплязированы, имеют форму пилы, выделяют секрет, содержащий гликоген. Этой стадии соответствует желтое тело в апогее своего развития.

Характерные гистологические особенности этой фазы слизистой касаются, главным образом, желез матки. Они резко гиперплязированы, имеют форму завитков, штопора или пилы. Эпителий получает стимул к сильному росту и отделяет секрет, содержащий гликоген. Соединительная ткань также разрастается и серозно имбибирована. Клетки в промежутках волокнистой сети находятся в состоянии оживленных митозов. На рис. 45 показано при сильном увеличении устье такой железы. Необходимо также отметить (на рисунке невидно), что железистые трубки в этот период необычайно богато васкуляризированы и окутаны множеством растущих капилляров.

Смысл этих фаз, как это уже выше указывалось, заключается в создании идеальных условий для закрепления и содержания оплодотворенного яйца. Если оплодотворения не наступило, то яйцо погибает и с этого момента «желтое тело «регрессирует, начинается его обратное развитие в фиброзную массу corpus albicans. С момента остановки эволюционного развития «желтого тела» прекращается дальнейшая продукция гор-

мона corpus luteum. Как только последний перестал выделяться, наступает немедленно «менструация», которая не есть простое изливание крови из расширенных артерий матки, но есть отторжение геморрагически перерожденной секреторной слизистой матки, которая при своем прямом дальнейшем развитии (при беременности) представляла бы децидуальные оболочки плаценты. Что это действительно так, показывают гистологическая картина слизистой матки в момент «менструации» и исследование менструальных масс, содержащих клочки секреторно-измененной слизистой.

По окончании менструаций обескровленная слизистая оболочка спадается, уплотняется, эпителий вскоре принимает свой обычный вид и получается картина в состоянии покоя (рис. 46). При созревании следующего фолликула, с накоплением фолликулярного гормона весь процесс, описанный выше, снова начинается с той же строгой периодичностью и теми же циклическими изменениями матки.

Рис. 44. Та же стадия слизистой матки, но накануне менструации («предменструальная фаза — секреторная»). 1 — compacta, 2—spongiosa с папиллярной формой желез.

В заключение следует привести данные Шредера (Schröder), показывающие с анатомической стороны, как изменяется в течение менструации толщина функционирующего слоя слизистой матки (слои компактный и губчатый):

состояние покоя
(на 2-й день после менструации) толщина: 0,5—0,8 мм;
фаза пролиферации
(на 10-й день после менструации) 2,5—2,9 мм;
фаза секреторная
(предменструальный период) 3,5—4,6 мм
менструации (начало) 7,5—8,0 мм

Остается решить вопрос о так называемом «лутеинизирующем факторе» вопрос, связанный с развитием «желтого тела», когда продукция фолликулярного гормона достигает своего минимума и наступает выделение нового, второго гормона яичников — «гормона corpus luteum», идущее параллельно развитию и сохранению «желтого тела». Исследования Шеллера, а также Ф. Лакера (Laquer), Арона (Aron), Шульце и Ронгофа (Schultze—Rhonhof) убеждают в том, что малые дозы «гонадотропного гормона» передних долей гипофиза стимулируют созревание фолликулов и образование фолликулярного гормона, а большие дозы «гонадотропного гормона» ведут к

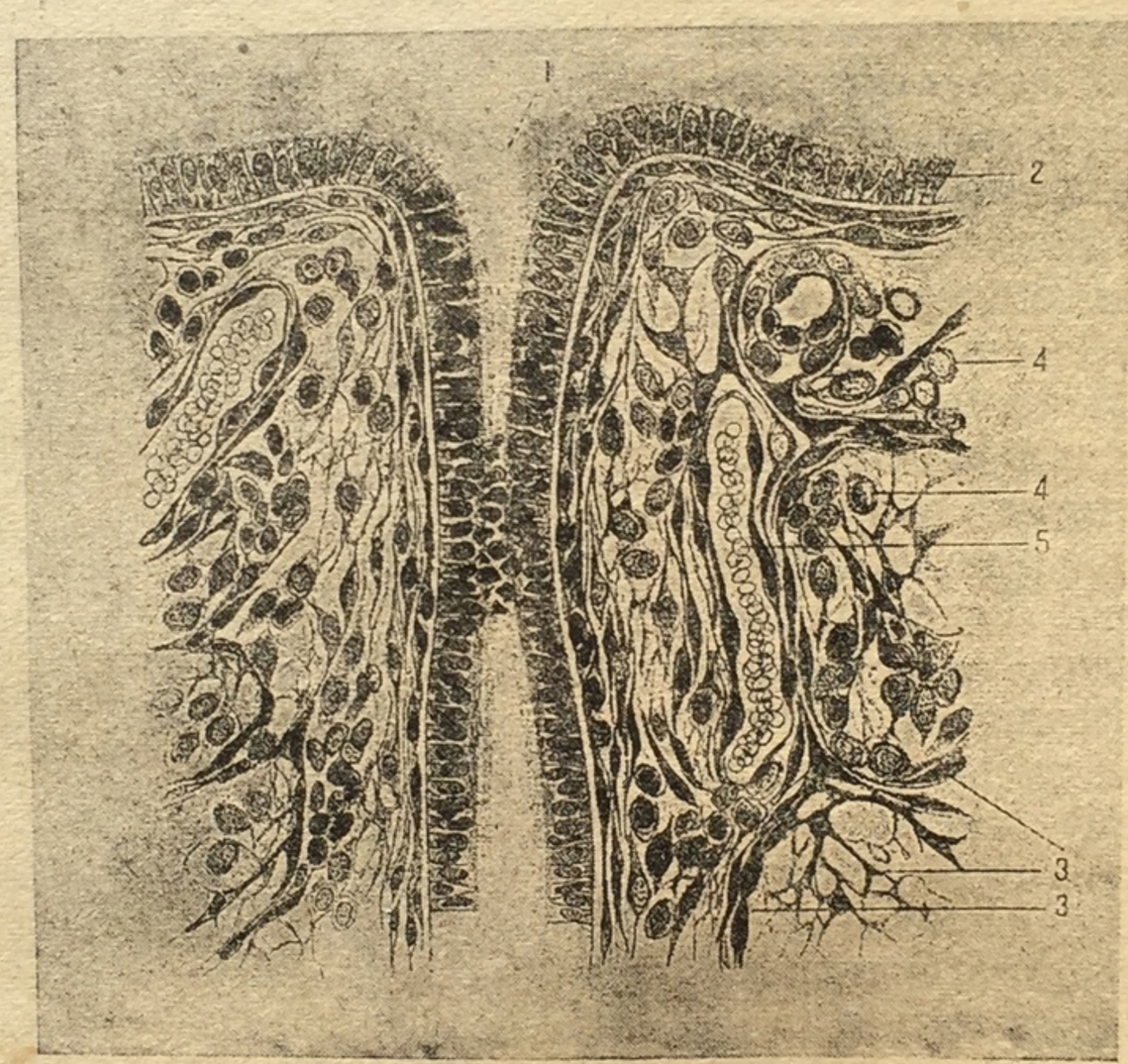


Рис. 45. Устье эпителиальной железы слизистой оболочки матки в состоянии ее «секреторной фазы». 1 — устье железы в полости матки; 2 — мерцательный цилиндрический эпителий; 3 — строма слизистой; 4 — крупно ядерные клетки стромы; 5 — капиллярный сосуд резко набухший. (Картина при большом увеличении 1×1 500.)

лутеинизированию фолликула и в разбираемом случае, следовательно, способствуют продукции «гормона желтого тела». Этот «лутеинизирующий фактор» хорошо укладывается в схему Шеллера. Уменьшение содержания фолликулярного гормона в крови вызывает нервным путем через сексуальный центр рефлекс на гипофиз и стимулирует выделение «гонадотропных гормонов», естественно, в очень больших дозах. Этим достигается нужная для развития «желтого тела» лутеинизация лопнувшего фолликула и вместо фолликулярного гормона продуцируется «гормон желтого тела».

Разобранный процесс менструации есть, сле-

довательно, физиологическое проявление комбинированного действия женских сексуальных гормонов.

В заключение я остановлюсь вкратце на тех экспериментальных данных, которые были получены у животных и у человека при применении этих гормонов, выделенных из естественных продуктов в кристаллическом виде. Такие опыты воспроизвели физиологический процесс менструации как у людей, так и у животных (течка), позволили проследить и изучить все фазы по отдельности и уловить наиболее характерное физиологическое действие этих гормонов, которое совпадает с изложенной выше картиной обычного физиологического полового цикла у женщины.

Фолликулярный гормон, выделенный в кристаллическом виде, действующий в ничтожных дозах, дает у животных «наступление течки» — процесса, аналогичного менструации женщины — и потому получил физиологическое название «гормона течки» (Oestrin, Brunsthormon). Гистологический разбор маток таких животных во всех случаях дает картину «фазы пролиферации». Лучше всего видно это на кроликах, крысах и морских свинках. Физиологическое действие на остальные органы половой системы и на вторичные половые признаки было также предметом экспериментального изучения на различных животных. Для матки была установлена зависимость между способностью ее к сокращению и течкой, вызываемой фолликулярным гормоном (Розенфельд — Rosenfeld, Дюран — Durrant, Бруа и Симоне — Brouha—Simonnet, Рейнольдс — Reynolds, Манерт — Mahnert и др.). Интересен тот факт, что на изолированную матку in vitro фолликулярный гормон никакого действия не оказывает (Марриан — Marrian, Ньютон — Newton). Применение высоких доз гормона вызывает аборт беременной матки (Курье — Courrier, Зоммер — Sommer, Кнелль — Knell, Уиттшпун — Witterspoon, Маино — Maino и др.).

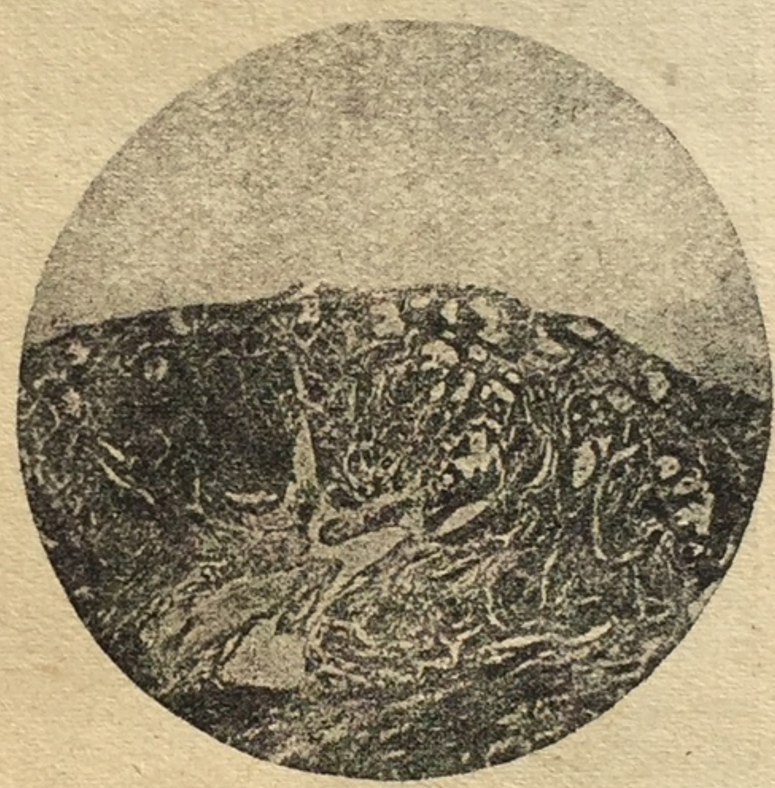


Рис. 46. Микроскопическая картина слизистой матки тотчас же по окончании менструации. Состояние покоя.

Влияние на наружные половые органы — влагалище, срамные губы — сказывается в их набухании и гиперемии. У обезьян это набухание наружного генитального аппарата достигает огромных размеров.

Связь с молочной железой подробно изучалась на

людях и животных многими авторами (Фелльнер — Fellner, Гартман — Hartmann, Винтембергер — Wintemberger, Леб и Кунтц — Loeb u. Kountz, Эрнст — Ernst, Шампи и Келлер — Champy u. Keller, Лакер — Laquer, Де-Ионг — De-Jongh). Гормон вызывает специфическое изменение молочной железы, как при беременности (рис. 47). В первую очередь характерна гиперемия сосков и набухание грудей у женщин, резкое развитие и рост сосков у животных. У крыс гиперемия заметна уже на третий день после дачи гормона и может служить биологическим показателем действия гормона на девственных животных-самках.

Рис. 47. Разрез через молочную железу женщины при беременности по Буммy. Особое внимание следует обратить на размеры соска. Аналогичную картину дает фолликул остерон в высоких дозах.

Дача фолликулярного гормона самцам вызывает также резкое увеличение сосков, ведет к потере мужских вторичных признаков и к явлениям феминизации (Турнер — Turner, Бенкан — Bencan, Скалионе — Scaglione, Завадовский).

Исследования Габерлянда (Haberlandt), Гауптштейна (Hauptstein), Келли (Kelly), Кнауса (Knaus) показывают, что очень высокие дозы фолликулярного гормона вызывают противоположный описанному эффект, приводя к «гормональной» стерилизации. Они находили у мышей в таких условиях опыта атрезию фолликулов и подавление их созревания. Однако, в последнее время эти наблюдения подвергаются сомнению опытами Грейля (Greil), Гостимировича и Крэмера (Gostimirovic — Krämer) и др.

Большой интерес представляют работы о влиянии фолликулярного гормона на работу сердечно-сосудистого аппарата. Мало убедительные данные Даниэля (Daniel), нашедшего, что под влиянием экстрактов, содержащих фолликулярный гормон, падает кровяное давление, нашли свое завершение и подтверждение в исследованиях, проведенных на N. depressor у кроликов.

Тот факт (Чермак — Tschermak, Эдриан — Adrian, Рилан — Rijlant), что деятельность N. depressor, записываемая электрофизиологическим путем, дает характерную кривую токов действия, причем малейшее изменение деятельности сердца изменяет соответственно осциллограмму депрессорного нерва, позволяет по осциллограмме нерва иметь суждение и о кровяном давлении; падение кровяного давления, как это точно установлено рядом электрофизиологических исследований, ведет к немедленному уменьшению электрической активности депрессора и уменьшению амплитуды осцилляторных волн. Приводимые на рис. 48 осциллограммы показывают, что под влиянием введенного в кровь фолликулярного гормона происходит сильное падение кровяного давления при одновремен-

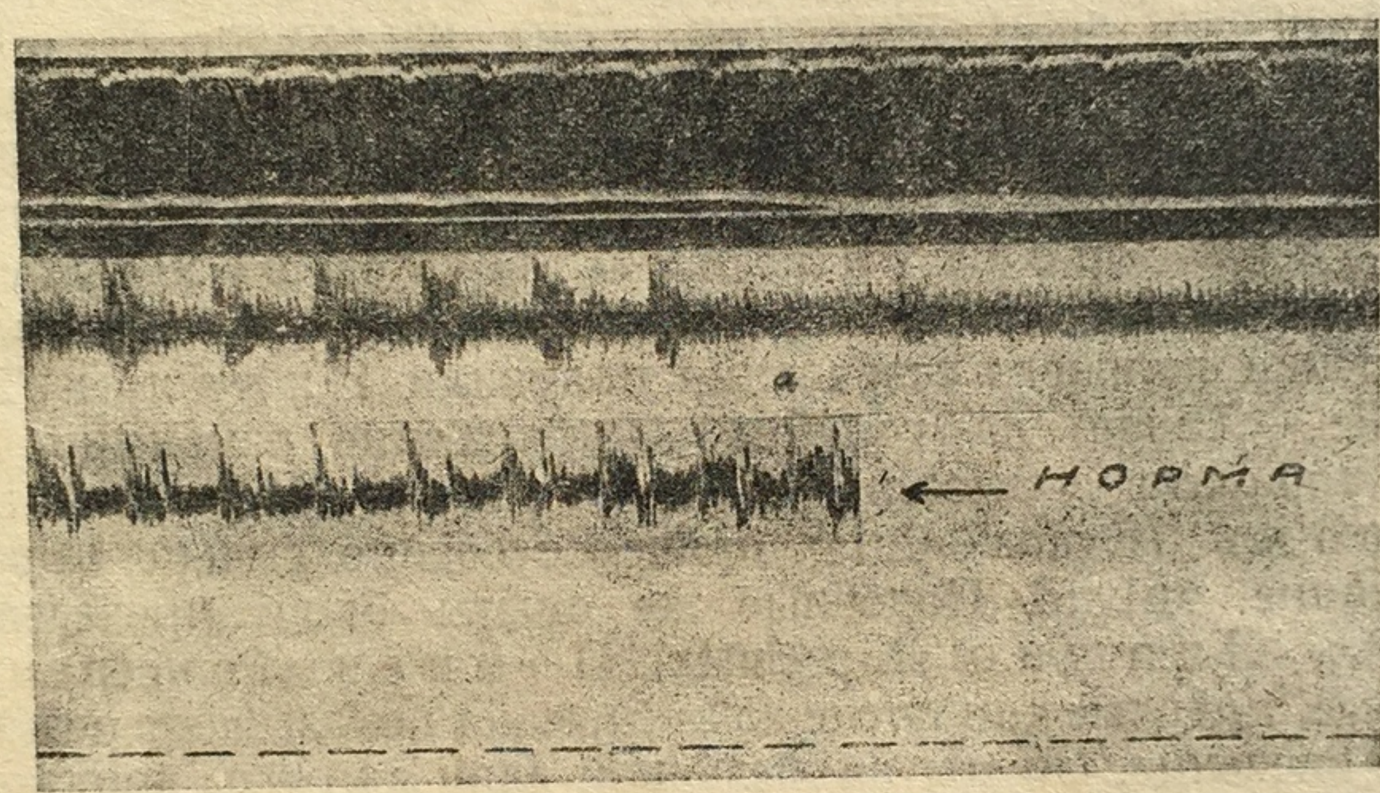


Рис. 48. Осциллограмма депрессорного нерва кроликов при введении им х. ч. фолликулярного гормона. Ниже для сравнения приведена та же осциллограмма в норме.

ном воздействии на волокна vagus и sympathicus, заключенные в N. depressor. Для сравнения показана контрольная осциллограмма N. depressor. В опытах in vitro на изолированном сердце фолликулярный гормон вызывает усиление сердечной деятельности. Значительно менее ясен вопрос о влиянии фолликулярного гормона на обмен вещества. Явления ожирения, остеомаляции, гипогенитализма, связанные с выпадением функции яичников, обусловили ряд исследований о влиянии гормона на жировой, липоидный, белковый, минеральный и углеводный обмен, а также на газообмен (Фразер — Визнер — Fraser — Wiesner, Ли — Lee, Царка — Szarka, Роу — Rowe, фон-Арвэй и Мейер — v. Arvay und Meyer, Вайль — Weil, Плаут и Тимм — Plaut — Timm, Кунд — Kunde, Мак Клендон — Mac Clendon, Вир — Veer, Шервуд — Sherwood, Долиотти — Dogliotti и др.). Все эти работы носят столь противоречи-

вый характер, что не только вывести какие-либо закономерности, но просто получить суждение о действии гормона на обмен веществ едва ли возможно. Я придерживаюсь точки зрения Горнунга (Hornung), Дэвида (David) и др., что явление ожирения у кастратов вовсе не связано с специфическим выпадением влияния фолликулярного гормона на жировой обмен, но дело заключается в гуморальном рефлексе, вызванном кастрацией и приводящем к изменению деятельности других желез внутренней секреции, в первую очередь — щитовидной железы. В общем, считать, что фолликулярный гормон действует как-либо специфически на обмен веществ, на основании имеющегося до настоящего времени экспериментального материала не приходится.

В заключение ряд исследований касается действия гормона на различные виды животных. Так например, Леонард (Leonard), Кинг (King—King) установили раннее половое созревание, вскрытие влагалища и рост матки у инфантильных крыс. У сенильных животных фолликулярный гормон вызывает половую реактивацию [Штейнах (Steinach), Вильгельм (Wilhelm), Слонакер (Slonaker) и др.]. Ускорение полового созревания получили Риддл и Тэнг (Riddle — Tange) на голубях. Циклические изменения полового аппарата вызывали у сук Мейер (Meyer), Эванс и Кооль (Evans—Cole), причем особенно сильно выражено набухание vulvae. Подобные же опыты были проведены на кошках [Липшиц (Lipschütz), Помпен (Pompen) и др.], которые в первые дни после дачи гормона показывают резкое половое влечение. Опыты на обезьянах дали картину циклических менструальных изменений, аналогичных человеку, но только при даче больших доз гормона [Маршалл — Marschall, Аллен — Allen, Мэддокс — Maddux, Робертсон — Robertson, Лакер и Де-Йонг — Laquer — De-Jongh, Корнер — Corner, Саики — Saiki, Шеллер — Schoeller и др.].

Все изложенное показывает, что выделенный из яичников фолликулярный гормон вызывает у животных, и у людей раннее половое созревание, усиление полового влечения и специфические изменения полового тракта и вторичных половых признаков, в точности соответствующие картине физиологической «течки» животных или менструального периода женщины. Таким образом, рассмотрение изменений органов, из которых слагается картина физиологической «течки» у животных, может служить критерием для установления, идентифицирования и дозировки различных препаратов фолликулярного гормона. В качестве наиболее специфических изменений, обусловливаемых этим гормоном, могут служить для указанных выше целей изменения в матке (пролиферативное ее состояние) и макроскопическая картина роста наруж-

ных половых органов и молочной железы (сосцы).

Гормон «желтого тела» или гормон беременности в отношении своего физиологического действия изучен еще не вполне достаточно. На основании имеющихся данных можно полагать, что специфический физиологический эффект этого гормона очень ограничен и исчерпывается его названием. Как было показано на людях (см. выше), действие гормона проявляется в виде характерного превращения слизистой матки в аналогичную предменструальной прегравидную фазу. Эти изменения матки у мышей, крыс и кроликов столь характерны, что служат методом биологической оценки действия препаратов гормона corpus luteum (Корнер и Аллен — Corner — Allen; Клауберг — Clauberg, Гольвег — Hohlweg; Штейнах—Дорн—Шеллер—Гольвег—Франк — Steinach — Dohrn — Schoeller — Hohlweg—Frank).

Гаррис и Ньюмэн (Harris—Newman) видят характерное физиологическое действие гормона corpus luteum в изменении (набухание, раскрытие и гиперемия) половой щели девственных мышей. Но этот признак по специфичности уступает указанному выше изменению слизистой матки. Представляют интерес опыты ряда авторов (Лонг—Эванс — Long—Evans; Вейхерт — Weichert; Гольдштейн и Тательбаум — Goldstein — Tatelbaum; Нельсон и Пфиффнер — Nelson—Pfiffner; Дэйк и Густавсон — Dyke — Gustavson), доказывающих образование, под влиянием гормона corpus luteum, в слизистой оболочке матки характерных «децидуом», аналогичных децидуальным оболочкам и «плацентом»—аналогов плаценты. Корнер и Уаррен — (Corner—Warren) смогли получить такие децидуомы у крыс в период кормления ими новорожденных, под влиянием дачи гормона желтого тела. Подобная искусственно вызванная «децидуома» у женщины показана на рис. 49. Наиболее характерно здесь колоссальное гипертрофическое развитие слизистой матки, причем картина первичных и вторичных половых признаков такого объекта соответствовала картине, наблюдаемой при беременности.

Подводя итоги работам по действию гормона corpus luteum на матку, можно считать установленным тот факт, что изменения, которые свойственны беременной матке, вызываются гормоном желтого тела.

В заключение, несколько замечаний об антагонистическом действии гормона corpus luteum и фолликулярного гормона. Паркс—Беллерби (Parkes—Bellerby) Котт—Палло (Cotte—Pallot), Де-Ионг—Дингманс (De-Jongh — Dingemanse), Адамберг—Липшиц

(Adamberg—Lipschütz), Грабер—Каульс (Graber—Cowles), Иэрс — Yares, Розенфельд—Дюрран (Rosenfeld—Durrant), Мандельштамм—Чайковский, Аллен—Амерлинк—Гурмайтай (Amerlink—Goormaghtigh), Глей—Шампи (Gley—Champy) утверждают, что ими выделена воднорастворимая фракция гормона «желтого тела» («Luteocrinin»), которая вызывает тормозящий действие фолликулярного гормона эффект. Однако, эта находка вряд ли может быть со всей достоверностью принята. Рейнольд (Reynold) считает, что гормон «желтого тела» тормозит только возбуждающее мышцы матки действие фолликулина.

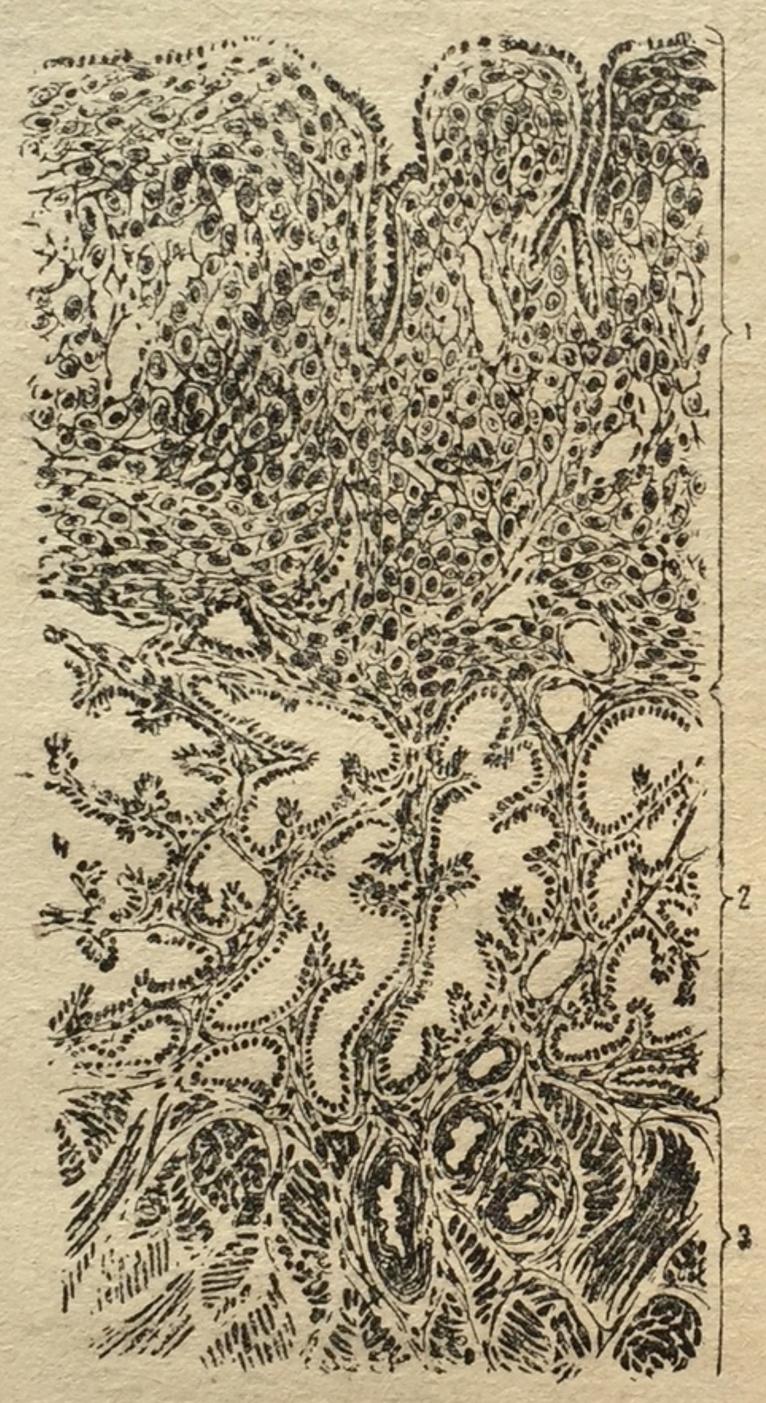


Рис. 49. Схематический разрез через искусственно вызванную у женщины, дачей половых гормонов— «децидуому» — превращенную слизистую оболочку матки.

Другие проявления действия гормона «желтого тела» на физиологические функции организма (сосудисто-сердечную систему, обмен веществ и т. д.) не могут считаться специфическими и ясно выраженными; на них поэтому нет смысла останавливаться подробнее.

Заканчивая рассмотрение физиологической функции женских половых желез в разрезе эндокринных их свойств, можно притти на основании изложенного здесь материала к выводу, что эта функция заключается в регуляции женского полового цикла и выполнении основной задачи женского организма — осуществлении беременности. Экспериментальный материал, так же как и сделанный в этой главе разбор механизма эндокринной функции женских половых желез, позволяет сделать целый ряд практических выводов для клиники эндокринных расстройств и заболеваний женского полового аппарата, лечение которых при помощи столь могучего фактора, как женские сексуальные гормоны, стало теперь вполне осуществимым и практически возможным, благодаря работам и достижениям химиков, выделивших эти вещества не только в химически чистом состоянии, но и добившихся получения их в бо́льших количествах синтетическим путем.

3. Физиологическая функция мужских половых желез

Исследование биологического эффекта, обусловливаемого эндокринной функцией яичек, было предметом многочисленных работ, причем вначале здесь, так же как и при изучении функции яичников, самым излюбленным способом была трансплантация и удаление половых желез. Многочисленные опыты по кастрации (Штейнах, Нуссбаум (Nussbaum), Гармс и др.] с полной очевидностью доказали, что недоразвитие или даже полное выпадение вторичных половых признаков, так же как и атрофия добавочных половых желез, простаты и др. (если кастрация была произведена в более позднем возрасте) являются результатом выпадения определенной внутренней секреции. Следующий опыт демонстративно это показывает: у молодого петуха после трансплантации вырезанных яичек в брюшную полость, происходит полное развитие вторичных признаков (гребень, шпоры), в то время как у кастрата все это пропадает. Очевидно, что перемещенные яички могли действовать только гуморальным путем, отдавая специфический инкрет в кровь; о нервном влиянии не может быть и речи.

Штейнах доказал, что перевязка семенного канатика, приводя к атрофии половых клеток яичка, одновременно вызывает резкое развитие и рост «межуточных клеток Лейдига», причем свойства пола остаются, вторичные половые признаки продолжают развиваться. Все это послужило основанием считать «межуточные клетки Лейдига» местом образования мужского полового гормона.

Опыты Маатца (Maatz), Бруа и Деклина (Brouha — Desclin), Каридруа (Caridroit) показали, однако, что перевязка семенного канатика, так же как и экспериментально вызванный крипторхизм, не равнозначны и не могут заменить кастрации. При этом у кроликов была найдена атрофия добавочных половых желез (Лейдолф — Leydolph), у крыс — остановка в росте (ван Вагенен — van Wagenen) и повышение электрической возбудимости (Мельхиор—Нортман—Melchior — Northmann). Исследования по исключению спермогенного аппарата яичек при помощи облучения лучами Рентгена показали ту же картину, что и перевязка семенного канатика. Весьма существенными являются наблюдения, сделанные на петухах Пезаром (Pezard), Этиасом (Athias) и др.: неполное удаление яичек привело снова к их регенерации, причем Пезар выставил на основании своих опытов закон «всего или ничего», по которому оставшаяся часть яичка или полностью способна поддержать развитие вторичных половых признаков, или вовсе не в состоянии этого сделать.

Целый ряд фармакологических исследований, посвященных изучению действия мужского полового гормона, точнее, различ-

ных «тестикулярных вытяжек» (работы Данилевского, Лихачева, Сентюрина, Шкаверы и др.), не позволяют сделать никаких выводов, так как являются уравнениями с двумя неизвестными: с одной стороны, неизвестно, содержат ли примененные авторами препараты вообще и в каких количествах действующий принцип (подлинный гормон); с другой стороны, также совершенно неизвестно, чему приписать найденное этими авторами действие на изолированные органы, характерно ли оно гормону, если следы такового в препаратах действительно содержались, или оно обусловлено неспецифическими примесями и загрязнениями.

Поэтому наиболее надежными до последнего времени являются опыты, которые связаны с изучением выпадения функций организма при экстирпации яичек, следовательно, опыты с полной кастрацией. В первую очередь подробно изучался общий обмен веществ у кастратов, поскольку давно известным фактом является резкое ожирение подобных индивидуумов. Первые работы Леви и Рихтера (Loewy—Richter), которые доказали снижение основного обмена после кастрации, были подтверждены позднейшими исследователями [Зубура (Tsubura), Птачек (Ptaszek), Перрачиа (Peracchia) и др.], но очень многие авторы не находили вообще никаких изменений обмена [Ашер и Берчи (Ascher—Bertschi), Аудэ (Aude), Бюнгелер (Büngeler), Левенштейн и Шварц (Loewenstein— Schwarz), Бак (Bacq) и др.). Перевязка семенных канатиков приводила к преходящему усилению обмена (Леви и Цондек (Loewy—Zondek), хотя полученные авторами цифры едва ли выходят за пределы физиологических колебаний. Исследования по азотистому обмену (Коренчевский), по углеводному обмену (Верда—Verda, Камада—Kamada и др.), по неорганическим и органическим составным частям крови (кальций крови, креатинин, холестерин крови), проведенные Бинэ—Глейем (Binet—Gley), Мирвиш—Бозманом (Mirvisch—Bosman) и др., не дают ни ясной картины, ни возможности сделать какие-либо выводы о непосредственном действии кастрации. Интересными являются наблюдения Коренчевского, что чрезмерная дозировка гормона ведет к обратному развитию мужских половых органов.

Установленным с достаточной ясностью и достоверностью является тот факт, что недостаточное питание, неполное голодание, а также неполноценная пища (даже если витамины в пище и присутствуют) ведут к обеднению яичек спермогенными элементами, замедлению и искажению спермиогенеза, дегенеративным явлениям в семенных канальцах и даже к частичной атрофии яичек и добавочных половых желез (Коренчевский; Эванс—Evans; Ширифф — Chirife; Мазон — Mason; Мур и Сэмю-

ельс—Moore—Samuels; Эйлер и Клузман;—Euler—Klusmann и др.).

Таковым представляется фактический материал опытов по исследованию физиологической функции яичек. Если попытаться его резюмировать, то приходится притти к заключению, что вся проблема еще далеко не изучена и вопрос подлежит тщательной и всесторонней дальнейшей разработке.

В самом деле, о непосредственном физиологическом действии, которое вызывает чистый мужской половой гормон еще почти ничего не известно. Единственным и вполне достоверным фактом остается установленный еще в 1849 г. Бертольдом факт, что эндокринная деятельность яичка определяет сохранение первичных и вторичных половых признаков самца (петуха). Этот гормон может считаться поэтому также «химическим фактором роста», однако, в значительно более слабой степени, нежели фолликулярный гормон у женщин.

Стимулирующее половое чувство действие гормона, усиление роста вторичных половых признаков (гребень, шпоры, оперение петуха), прилив крови к наружным половым органам суть проявления одного и того же механизма как в случае действия фолликулярного гормона на женский организм, так и в разбираемом случае мужского полового гормона.

Я хотел бы остановиться на вопросе о механизме внутренней секреции яичек и вернуться к выяснению того, какие клеточные элементы яичек несут эту функцию и какие половые гормоны установлены для мужских половых желез. Задача внутренней секреции яичек, как из всего изложенного выше следует, заключается в поддержании полового влечения для выполнения размножения, а также в поддержании половых признаков, что физиологически находит свое выражение в усилении специфического роста тканей и влиянии на обмен веществ. Что эта функция принадлежит яичку — является несомненным фактом и, по всей вероятности, осуществляется основными семенными клетками, а также «интерстициальными клетками Лейдига». Эндокринная функция последних представляется на основании бесчисленного экспериментального весьма противоречивого материала наиболее достоверной в следующем виде: «клетки Лейдига» несут двойную функцию: они собирают из крови специфические необходимые питательные вещества с тем, чтобы по мере надобности последние отдать семенным клеткам кровяным путем; с другой стороны, клетки Лейдига подчинены системе гипофиза, которая нервным и гуморальным путем регулирует- функцию последних. Внутренняя секреция клеток Лейдига заключается в том, что путем выделения специфического инкрета основные семенные клетки яичка стимулируются к спермиогенезу — к размножению и дальнейшему созреванию в семенные нити.

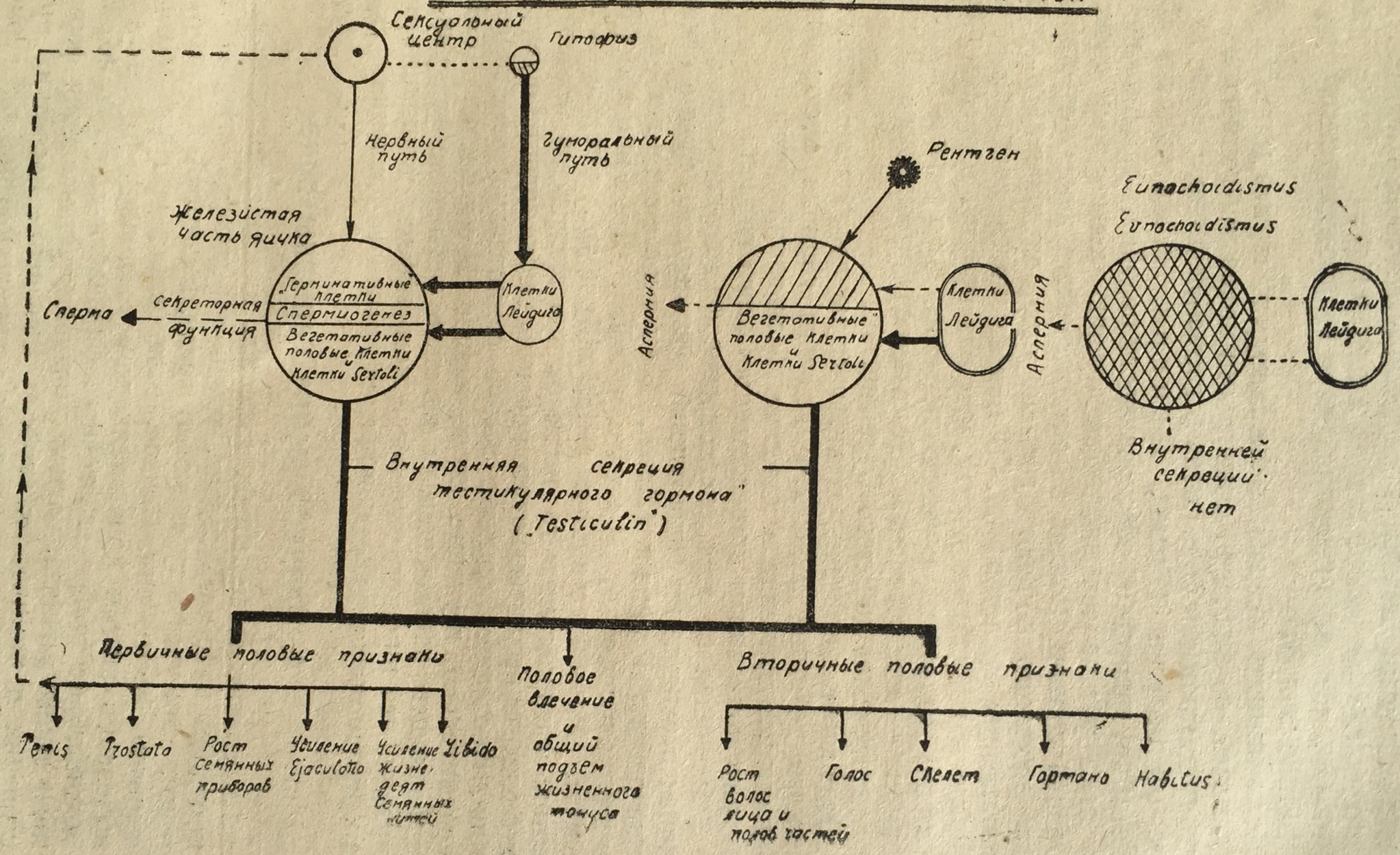
Половое влечение, половые признаки обусловлены, однако, внутренней секрецией не указанных клеток, как это считали Ансель, Штейнах и др., а по всей вероятности — основных семенных клеток (спермиогоний) и базальных клеток Sertoli (Гармс, Стивэ, Злотопольский, Пезар, Кудряшов и др.). Чисто морфологические данные показывают, что усиление полового влечения у животных стоит в связи с увеличением не клеток Лейдига, но основных половых клеток — спермиогоний. Все то, что в половом отношении может быть объединено в одно общее понятие «мужественности», имеет с «межуточными клетками Лейдига» лишь постольку общего, поскольку последние обусловливают своей секрецией тонус и размножение основных половых клеток яичка, продуцирующих мужской половой гормон.

При такой картине внутренней секреции яичка легко объяснимы факты, что при перевязке семенников, крипторхизме и функциональной атрофии семенных клеток (действие Рентгена), несмотря на исчезновение основных половых клеток, отсутствие спермиогенеза, все же вторичные половые признаки, так же как и половое влечение, сохраняются. В этих условиях констатируется резкое разрастание клеток Лейдига и сохранение в неповрежденном виде клеток Sertoli. Принимая, что клетки Лейдига помимо трофической функции имеют задачей путем своего инкрета поддерживать постоянное образование новых, недифференцированных семенных клеток, совершенно естественно, что искусственно вызванное уничтожение или запустевание последних дает могучий стимул к гиперплязии и гипертрофии клеток Лейдига; усиление функции последних вызывает. в свою очередь усиленный рост семенных клеток взамен погибших, чтобы важнейшая функция размножения была сохранена. Однако, пока внешний антиспермиогенный фактор продолжает действовать на семенные канальцы, основные семенные клетки не могут осуществить своей дальнейшей дифференцировки путем спермиогенеза. Но этим не исключается возможная их эндосекреция. Если в эксперименте действие антиспермиогенного фактора будет прекращено, наступает быстрая регенерация и восстановление семяобразования, причем тотчас же восстанавливаются и нормальные соотношения между количеством семенных канальцев и числом клеток Лейдига.

В изложенных опытах, естественно, не имело места полное разрушение основных половых яичек, скорее был задержан спермиогенез. Морфологические исследования показали, далее, что при этом клетки Sertoli постепенно дегенерируют, но обновляются путем новообразования под влиянием того же стимула, идущего от клеток Лейдига.

Инкрет клеток Лейдига есть своего рода дополнительный «мужской пролан» — тот мотор, который обусловливает

Схема внутреней секреции яичек



внутреннюю секрецию основного мужского полового гормона, продуцируемого основными половыми клетками яичек (семенные клетки и клетки Sertoli). Изложенные отношения представлены на предлагаемой «Схеме внутренней секреции яичек», которая в известной мере воспроизводит современное состояние вопроса.

Если принять предлагаемую схему, то из нее вытекает необходимость, по аналогии с женскими половыми гормонами, принять существование двух половых гормонов яичка. Опыты Шампи, Фрейда (Freud), Лакера, Мартинса (Martins) и др. говорят об обоснованности подобного предположения, но пока установлен вполне достоверно только один мужской половой гормон. Вопрос об окончательном доказательстве второго мужского полового гормона есть, следовательно, вопрос дальнейших исследований. В момент когда настоящая монография находилась в печати, как раз пришло известие о безупречном открытии и доказательстве второго мужского гормона — «тестостерона» (Testosteron) выделенного Лакером и синтетически добытого Бутенандтом.

Отдельные достаточно специфические показатели физиологического действия мужского полового гормона имеют важное прикладное значение в качестве обоснования методов биологического контроля и стандартизации этого гормона.

Заканчивая на этом рассмотрение физиологической функции яичек в аспекте их эндокринной деятельности, нужно отметить еще работы Гунта (Hunt), Боголанского и Коренчевского, Махта (Macht), Ямашита (Jamashita), Риччителли (Riccitelli) и др., которые на основании физиологического исследования экстрактов предстательной железы приписывают этому органу также эндокринную функцию. Последнее, однако, весьма сомнительно, тем более что сравнительно недавние исследования Коллипа (Collip), выделившего из этой железы довольно очищенные фракции, показали, что никакого специфического эффекта установить нельзя, кроме преходящего повышения кровяного давления.

4. Специфические гормоны пола

Выделение естественных гормонов в химически чистом, однородном виде есть задача, трудности которой становятся ясными, если учесть ту сложную среду, в которой интересующее вещество растворено. Однако, если цель достигнута и гормон выделен в чистом кристаллическом состоянии, то дается возможность не только его точного физиологического и фармакологического анализа, но и возможность установления формулы строения и химических свойств. Выяснение последних приводит к полному решению вопроса о химической природе гормона, определяет его положение в ряде процессов обмена веществ в

организме и в заключение дает ключ для искусственного получения этого гормона в больших количествах, дает практическое осуществление его синтеза. С этого момента ценный, до того недоступный препарат становится легко получаемым терапевтическим веществом, открывающим перспективы не только теоретических естественных наук, но и прикладных — в первую очередь медицины.

ЖЕНСКИЕ СЕКСУАЛЬНЫЕ ГОРМОНЫ

В процессе искания путей выделения женских половых гормонов, продолжавшемся около 20 лет, следует различать в исторической последовательности три периода.

Еще Френкель, Герман, Фелльнер, Шредер и Гербель получали из яичников и плаценты фракции, которые вызывали рост матки у девственных неполовозрелых кроликов и давали, повидимому, специфический эффект. Однако, в этот период исследователи не имели в руках надежной биологической методики, доказывающей действующее вещество. И тем не менее, уже этим авторам удалось установить, что действующее начало, которое они считали «гормоном яичника» характеризуется рядом химических особенностей: нерастворимостью в воде, легкой растворимостью в органических растворителях жиров и липоидов, а также своей стойкостью относительно высокой температуры, омыления и кислот.

Значительным шагом вперед, определяющим второй период в развитии вопроса получения химически чистых половых гормонов женского организма, явились исследования Аллена и Дуази (Allen—Doisy). Ценность этих работ заключалась не в том, что был использован какой-либо новый исходный материал для получения гормонов (они вначале исходили также из яичников и плацент), и не в том, что они нашли какой-либо особый способ химической обработки липоидных фракций, но в том, что ими был впервые выработан безупречный метод биологического контроля (Allen—Doisy—Test), который позволил длительно и постоянно устанавливать количественно и качественно силу действия выделяемого действующего начала. Хотя метод химического выделения гормона, улучшенный Дуази и его сотрудниками (Джонстон, Раллс, Иордан, Тэйр — Johnston, Ralls, Jordan—Thayer), давал мизерные выходы вещества, тем не менее ему впервые удалось получить «концентрат женского полового гормона», показывавшего специфический физиологический эффект на примененных им биологических индикаторах в дозах от 35 γ (гамма = 0,001 мгр). Ему принадлежит приоритет присвоения женскому половому гормону имени — «фолликулярный гормон».

Дальнейшие исследования этого периода касались преиму-

щественно вопроса о распределении и нахождении фолликулярного гормона в организме. Естественной целью этих работ были поиски исходного материала, где гормон содержался бы в наибольших количествах. Была изучена плацента (Штейн Stein, Френкель—Фонда,— Fraenkel—Fonda, Франк—Frank, Массаца—Massazza, Оффергельд—Offergeld, Зейтц—Seitz, Зейтц—Винтц—Фингергут), причем удалось доказать в ней наличие гормона; Коллип (Collip) предполагает, что в плаценте помимо фолликулярного гормона имеются еще три других гормона, однако его результаты сомнительны и один из выделенных им особых гормонов (Emmenin) может быть идентифицирован с дериватом фолликулярного гормона (гидратом последнего). Также был найден фолликулярный гормон в кистах яичников (Бруа и Симоннэ), в плодных водах при беременности (Моррель—Morrell, Гутман—Gutmann, Пэйн—Payne и др.), в крови и моче при злокачественных опухолях (Прибрам—Pribram, де-Сно—de-Snoo, Фрейд—Freud, Дингманс—Dingemanse, Зильберштейн—Silberstein, Энгель—Engel, Леве—Loewe и др.). Наконец, было установлено наличие фолликулярного гормона в яйцах птиц (Фелльнер), в икре рыб и даже в бактериях (туберкулезная палочка; Педерсен—Бьергаард—Pedersen—Bjergaard). Кроме того, были проделаны работы, определившие огромное значение половых гормонов в проблеме роста вообще, касавшиеся нахождения веществ идентичных по физиологическому действию фолликулярному гормону. Шеллер и Гебель (Goebel), Дорн Валькер и Джэней (Walker—Janney) и др. доказали наличие фолликулярного гормона в растениях; дача его растениям и семенам резко ускоряла созревание семян и приводила к раннему цветению и более пышному развитию цветов. Кнох (Knoch) нашел фолликулярный гормон в морской воде.

Дрожжи и низшие животные тоже показали наличие фолликулярного гормона (Глимм и Вадэн—Glimm—Wadehn, Швертфегер—Schwerdtfeger, Бауэр—Bauer и др.). Наконец, Ашгейм и Гольвег (Aschheim—Hohlweg), Доддс и Кук (Doods—Cook), Адам—Даниелли—Доддс—Кинг—Марриан и Розенгейм (Adam—Danielli—Dodds—King—Marrian u. Rosenheim) доказали генетическую химическую связь между каменноугольной смолой, битуминозными веществами, стеринами и фолликулярным гормоном; указанные вещества давали у некоторых животных эффект «течки».

Все приведенные работы имеют тот интерес, что они, с одной стороны, показали пути выведения фолликулярного гормона в живом организме, с другой стороны, доказывают его универсальное распространение в природе как одного из важнейших жизненных фак-

торов, как химического фактора роста и размножения живого вещества. Роль и значение этого гормона, как мы видим, далеко выходит за рамки изложенных выше корреляций и связанных с ним функций женского организма. Фолликулярный гормон становится в центре проблемы химии роста, включая сюда также и неорганизованный рост злокачественных новообразований. Химическая природа этого гормона — отнесение его к группе стеринов—показывает все растущее актуальное значение важнейшего представителя этой группы химических веществ — холестерина.

Возвращаясь к вопросам выделения фолликулярного гормона в чистом виде, возможно перейти к третьему, современному периоду состояния этого вопроса. Франк (Frank) и его сотрудники смогли доказать, что кровь содержит некоторые количества фолликулярного гормона, который возможно выделить экстракцией алкоголем с последующим извлечением гормона из алкогольной фракции бензолом. Эти данные, подтвержденные и развитые детальнее Фельсом (Fels), Смитом (Smith), Амати (Amati), Зиддалом (Siddall), Жилем (Gil), Уайльдбуш и Клендоном (Wildebusch—Mc.Clendon), Кемпом и Бьергаардом (Kemp—Bjergaard), Зибке (Siebke) и др., послужили толчком к поискам гормона в продуктах выделения организма, прежде всего в моче. Леве (Loewe) был первым, который доказал в моче здоровых женщин наличие гормона.

Однако, все значение моча женщины как исходный материал для получения значительных количеств фолликулярного гормона получила только тогда, когда Цондек и Ашгейм (Zondek — Aschheim) указали на тот факт, что беременная женщина, так же как и беременное животное, выводит в своей моче очень большие количества гормона, особенно на высоте и в конце беременности. Наряду с этим, доказав, что в самом начале беременности моча содержит большие количества «гонадотропного гормона», авторы предложили свою известную реакцию на беременность.

Тот же факт выделения фолликулярного гормона в моче в период развитой беременности был доказан у коров Гайсоу и Мейером (Hisaw—Meyer), Папаниколау (Papanicolau), Ниблером и Турнером (Nibler—Turner) и др. В дальнейшем оказалось, что совершенно необычные количества в смысле богатства показывает моча кобыл: в конце беременности количества фолликулярного гормона в ней достигает десятикратных количеств по сравнению с мочей беременных женщин в том же периоде беременности (Кюст и сотрудники — Küst u. a.).

В связи с открытием Цондека и Ашгейма, моча беременных стала в центре внимания исследователей, занимав-

шихся химией женских сексуальных гормонов, как наиболее рентабельный исходный материал для выделения этих гормонов. Новая эпоха в химии гормонов начинается со времени блестящих работ Бутенандта (Butenandt) и его школы, который выделил и идентифицировал фолликулярный гормон в чистом кристаллическом виде, активность которого составила 5 мышиных единиц в 1 гамме (γ). Независимо от Бутенандта и почти одновременно по времени, подобные, хотя и менее активные препараты этого гормона выделили Дуази (Doisy) и Марриан (Marrian). На прочих исследователях, примерно в то же время занимавшихся этим вопросом (Глимм—Вадэн Glimm—Wadehn; Лакер—Laquer, Функ—Funk, Уайльс-Wiles, Цондек и ван-Эвейк—Zondek—van-Eweyck, Фраттини и Маино—Frattini—Maino, Госс и Коле-Goss-Cole, Геммингсен-Hemmingsen, Штэммлер и Дятлова-Stammler-Djatlowa, Килин-Kylin, Гейль и Гарт—Heyl—Hart, Флесснер—Flössner, и др.) нет смысла останавливаться здесь подробнее, так как их работы ничего существенного и нового к приведенным выше работам немецких и английских исследователей не принесли; в ряде случаев речь шла о тех же препаратах, только более загрязненных и менее идентифицированных.

Некоторый интерес представляют работы Куртиса (Curtis), а также японских авторов Ито и Гайацу (Ito—Hayazu), которые предложили простой способ получения бо́льших количеств фолликулярного гормона из мочи кобыл и беременных женщин. Правда, их препараты не отличаются чистотой и безукоризненностью с чисто химической точки зрения.

Вслед за выделением в 1929 году фолликулярного гормона, Бутенандт и его сотрудники (Jacobi, Schwenk, Hildebrandt, Störmer и др.) получили из мочи беременных ряд дериватов и спутников этого гормона и, что весьма существенно, получили фолликулярный гормон из растений, выделив и идентифицировав его из экстракта пальмовых орехов, а в начале 1936 года аналог этого гормона был впервые получен синтетическим путем (Ремезов).

Таким образом, с полной очевидностью было доказано универсальное распространение фолликулярного гормона в животном и растительном мире, а кроме того было установлено, что в моче беременных, а следовательно и в женском организме, выделяется не только один фолликулярный гормон, который был назван «α-фолликулярный гормон» или «α-фолликулин», но и целый ряд его изомеров (β-фолликулин) и производных (гидрат фолликулина), которые, однако, физиологически дают более слабый эффект.

В литературе появилось множество названий, которые приводят к путанице понятий, хотя при ближайшем рассмотрении нетрудно убедиться, что речь идет в большинстве случаев об

индентичных веществах с той лишь разницей, что они выделены в разных странах и различными исследователями.

На основании современного состояния вопроса основными, выделенными в кристаллическом, химически чистом виде и вполне идентифицированными надо считать следующие препараты фолликулярного гормона женских половых желез:

1. *α-фолликулин* (α-фолликулярный гормон) представляет собой основной гормон, продуцируемый фолликулами яичников, находимый также в бактериях и растениях и выделяемый из мочи беременных женщин, мочи кобыл и других животных (коровы, свиньи), из плаценты, из сока, получаемого отжимом зрелых фолликулов яичников, из крови, из яиц птиц, из пальмовых орехов и т. д. Этот гормон идентичен следующим не менее безупречным препаратам английских и американских исследователей: «Эстрину» (Oestrin); «Эстрону» (Oestron), выделенным Маррианоми его школой, «Тилину» (Theelin), выделенному Дуази и его сотрудниками и «Менформону» (Menformon), выделенному Лакером. Ряд прочих препаратов, как например, «Amniotin», «фолликулен» и др., представляет неочищенные, содержащие различные примеси, менее активные препараты того же гормона. Для «α-фолликулина», получаемого заводским путем по прописи Бутенандта, фирмой Шеринг-Кальбаум дано патентованное название «Progynon».

Из изложенного следует, что один и тот же препарат α-фолликулярного гормона получил пять различных названий; из них я буду придерживаться в дальнейшем только одного — первого из приведенных. Этот препарат характеризуется специфическим действием и прежде всего своей огромной активностью. Соответственно он должен удовлетворять следующим физиологическим данным: в дозах от 0,025 гаммы (γ) вызывать на одной кастрированной мыши однократный цикл течки; дача этих доз в течение нескольких дней должна вызвать на том же объекте типическое разрастание матки, влагалища и молочных желез; гормон должен тормозить развитие мужских первичных и вторичных половых признаков и, наконец, усиливать и побуждать рост растений и цветов (Бутенандт — Цигнер — Butenandt — von-Ziegner, Бутенандт-Гильдебрандт, Лакер - Laquer, Шеллер и Гебель - Schoeller - Goebel). На этом основании подобный препарат заслуживает физиологического названия «гормона течки». Он является также специфическим химическим фактором роста (Ремезов).

2. *Изомеры α-фолликулина* выделены Бутенандтом и его сотрудниками Штермер (Störmer) и Гильдебрандтом (Hildebrandt) из мочи кобыл и поэтому не могут быть пока с полной достоверностью перенесены на человека. Имеются два изомера — «β-фолликулин» и «δ-фол-

ликулин», или, как их еще называют, «β и δ-фолликулярные гормоны».

3. *Производные α-фолликулина*, имеющие тот же, что и основной гормон, физиологический эффект, хотя и в значительно более слабой степени, выделены многими авторами и представляют скорее химический, чем биологический интерес, кроме, может быть, первого из приводимых ниже:

Гидрат фолликулина есть производное α-фолликулина, которое идентично следующим препаратам: Тилолу» (Theelol)-Дуази, «Тригидрооксиэстрину (Trihydroxyoestrin), «Эстриолу» (Oestriol) Марриана и «Эмменину» (Emmenin), выделенному из плаценты Коллипом (Collip).

Дигидро-фолликулин — идентичен так называемому «дигидро-фолликулярному гормону» и «дигидро-оксиэстрину.

Дезоксо-фолликулин — идентичен так называемому «дезоксо-тилину» Дуази.

Что касается прочих производных, то в отношении их пока номенклатурных расхождений у различных исследователей нет.

В заключение необходимо остановиться на работах французских исследователей Жирар (Girard), Сандулеско, (Sandulesco) и др., которые выделили в 1932 году три изомера фолликулина из мочи беременных кобыл. Их кристаллизаты «Equilin», «Hippulin», «Equilenin» настолько отличаются от всех полученных большинством исследователей препаратов фолликулярного гормона и его β-и δ-изомеров, что они должны быть выделены совершенно отдельно. Однако, судя по неострой точке плавления этих препаратов и низкому физиологическому эффекту, очень вероятно, что здесь речь идет не о каких-либо новых изомерах гормона, а просто о недостаточно очищенных, вследствие небезупречной методики химического анализа, обычных препаратах фолликулярного гормона, примеси к которому снижают его физиологическую активность.

Большой интерес представляет факт, открытый Доддсом и Куком (Dodds-Cook), Куком, Хьюеттом и Лосоном (Cook — Hewett and Lawson): эргостерин, кальциферолль и особенно неоэргостерин, т. е. вещества, обладающие витаминогенными свойствами, так же как и вещества каменноугольных смол, вызывающие экспериментальный рак (I—Keto — 1. 2. 3. 4. tetrahydrophenanthen), обладающие все без исключения общим восстановленным ядром фенантрена, вызывают в биологической пробе Аллен—Дуази положительный эффект течки, правда, при применении больших доз — от 50 миллиграмм и выше.

Изложенного достаточно, чтобы убедиться в том значении, которое в настоящее время приобретает химия и биохимия половых гормонов и прежде всего «гормона течки». Проблема этих веществ охватывает не только физиологию женского организма, клинику женских заболеваний, но и вопросы животноводства, растениеводства и пр.

Переходя ко второму, совершенно самостоятельному гормону продуцируемому женскими половыми железами, и в частности, как было уже установлено, «желтым телом» — к «гормону беременности» или «гормону corpus luteum», нужно обратиться в порядке исторической последовательности к уже многократно цитированным работам Борна и Френкеля, доказавших эндокринную функцию «желтого тела» и впервые сделавших попытку выделения этого гормона. Сюда же следует причислить попытки Да-Ре (Da Re)—Джонсона и Чэллэнса (Johnson—Challans), Куррье и Келя (Courrier—Kehl), которые, однако, не дали удовлетворительных результатов. Нельзя при этом не упомянуть парадоксальных полемических работ Пти Дютэлиса (Petit Dutailis), который пытался на этом основании со всей настойчивостью оспаривать внутреннюю секрецию corpus luteum. Началом планомерных и обещавших успех работ явились исследования Корнера и Аллена (Corner—Allen), которые так же, как и для фолликулярного гормона, разработали надежную и легко осуществимую методику биологической пробы на гормон corpus luteum («Corner—Test»). Он заключался в наличии специфических, уже подробно разобранных выше изменений в матке у кроликов, которым предварительно был дан фолликулярный гормон или которые были кастрированы тотчас после копуляции. Вслед затем Клауберг (Clauberg) предложил свою пробу на гормон corpus luteum, разработав его на инфантильных кроликах; далее, Кнаус (Knaus)—помощью гонадотропного гормона гипофиза также на кроликах, Гаррис и Ньюмэн—на мышах, где индикатором служат изменения половой щели. В заключение Гольвег (Hohlweg) объединил обе пробы Клауберга и Корнера—Аллена в одну, наиболее удобную для серийных опытов с целью испытания препаратов гормона желтого тела.

Первые экстракты, однако, по данным самих авторов не претендовавшие на сколько-нибудь однородный в химическом смысле состав, были выделены Алленом (Allen) и его сотрудниками. Они получили из 70 килограмм свежих corpora lutea, вырезанных из яичников, около 3 миллиграмм кристаллизата неопределенного химического состава, содержавшего примеси фолликулярного гормона (ср. также работы Бергамини (Bergamini) освобожденного от фосфатидов и холестерина и показывавшего специфический физиологический эффект на матке

кроликов в пробе Аллена и Корнера. Дальнейшие работы Корнера дали идентичные, но более активные в физиологическом отношении кристаллизаты, которые он назвал «Проджестином» («Progestin»), но не смог дать более точной химической характеристики. Февольд—Гайсоу и Мейер (Fevold—Hisaw—Meyer) выделили целый ряд активных кристаллизатов, применяя очень сложную методику их разделения, и пришли к выводу, что гормон corpus luteum состоит из двух самостоятельных фракций: «Релаксина» (Relaxin) и «Корпорина» (Corporin). Корпорин они идентифицировали по физиологическому действию «Проджестину» Корнера, а «Релаксину» приписывали особое действие—ослаблять связки симфиза. Однако, даже на этом этапе разработки химии гормона corpus luteum, данные о «Релаксине» были опровергнуты появившимися поверочными работами де-Фремери (de-Fremery), Бенацци (Benazzi), Меле (Möhle) и др. Дальнейшие работы многих исследователей (Нельсон—Nelson, Бенкан — Bencan, Бруа и Симоннэ— Brouha—Simonnet, Винтер — Winter, Махт — Macht, Сквибб — Squibb и др.) не дали существенного толчка вперед в смысле выделения химически однородных и вполне достоверных препаратов гормона corpus luteum. Было только установлено, что действующее начало — типичной липоидной природы, выносит кислоты и не выносит щелочей, ведет себя подобно лактонам и весьма трудно отделимо от постоянного спутника — фолликулярного гормона.

Таким было положение вещей ,когда в марте 1934 года Бутенандт и его сотрудники (Butenandt—Westphal—Hohlweg) опубликовали выделение химически чистых, вполне однородных, физико-химически и физиологически идентифицированных кристаллизатов гормона corpus luteum. Примерно одновременно и независимо от Бутенандта кристаллический гормон corpus luteum, менее очищенный и химически менее безупречный был выделен Слотта—Рушигом и Фельсом (Slotta — Ruschig — Fels) при участии Нейгауса (Neuhaus), и Гартманном—Веттштейном (Hartmann — Wettstein). Выделенный Бутенандтом препарат кристаллического гормона оказался активным в дозах 0,75 мгр, показывая специфические изменения матки (стадия 2—3) в биологической пробе Аллена—Корнера—Клауберга, разработанной Гольвегом. Исходным материалом служили, как и во всех предыдущих работах, вырезанные из яичников свиней corpora lutea, причем Бутенандт побил рекорд в смысле количеств взятого для опытов исходного материала — им было взято 160.000 шт. свиных яичников, что составляло около 1000 килограмм (1 тонна). Эти работы послужили исходными толчком для синтеза гормона corpus luteum, который через полгода и был

осуществлен Бутенандтом

время можно говорить об одно

нах corpus luteum, отличающ

чения и происхождения. Вопр

гормона corpus luteum обстоит

зобранном выше случае фолли

тельно установленных фактов

только одного естественного

Лутеостерон, или «гормон сп

сталлический, вполне однородны

второго, вполне самостоятельн

желез, содержащегося в желтом

verum), в плаценте и моче бер

лена—Корнера—Клауберга д

щения матки в секреторную

Лутеостерон C и D (Slotta

модификации одного и то

Что касается препаратов, по

стин» (кристаллизаты Корн

tein—препараты Сквибба

ксин» (Февольда—Гайсоу и

лишь загрязненные примесям

luteum. Данные физиологичес

мона позволяют считать спр

его биологическому эффекту

беременности».

Резюмируя приведенный фа

гормонов женских половых ж

установленным наличие дв

гормона» (фолликулин), пр

ликулами и являющимся по

моном течки», и «г

(лутеостерон), продуцируем

в результате инволюции т

физиологическому признаку

Сочетанное действие обоих

общим именем «женских

нов», определяет собою то

от которого зависят полов

шении женщины, а также

млекопитающих животных

в мире растений.

Изложенный материал, од

торые относятся к так назыв

были специфическими

ски» гормоны, позже б

продукты специфических

осуществлен Бутенандтом. Таким образом, в настоящее время можно говорить об естественном и синтетическом гормонах corpus luteum, отличающихся только по способу их получения и происхождения. Вопрос о номенклатуре в отношении гормона corpus luteum обстоит значительно проще, чем в разобранном выше случае фолликулина. На основании окончательно установленных фактов можно полагать существование только одного естественного гормона corpus luteum.

Лутеостерон, или «*гормон* corpus luteum», представляет кристаллический, вполне однородный препарат действующего начала второго, вполне самостоятельного гормона женских половых желез, содержащегося в «желтом теле» (Corpus luteum spurium или verum), в плаценте и моче беременных, который в пробе Аллена — Корнера — Клауберга дает специфический эффект превращения матки в секреторную фазу в дозах от 0,75 мгр.

Лутеостерон C и D (Slotta u. Ruschig) — суть полиморфные модификации одного и того же гормона corpus luteum.

Что касается препаратов, получивших названия «Проджестин» (кристаллизаты Корнера), «Фоллутеин» (Follutein — препараты Сквибба), «Корпорин» и «Релякcин» (Февольда — Гайсоу и Мейера), то все они представляют лишь загрязненные примесями препараты гормона corpus luteum. Данные физиологического изучения препаратов гормона позволяют считать справедливым, отвечающим вполне его биологическому эффекту обозначение его как «гормона беременности».

Резюмируя приведенный фактический материал, касающийся гормонов женских половых желез, можно считать окончательно установленным наличие двух гормонов: «*фолликулярного гормона*» (фолликулин), продуцируемого созревающими фолликулами и являющимся по физиологическому признаку «гормоном течки», и «гормона corpus luteum» (лутеостерон), продуцируемого «желтым телом», образующимся в результате инволюции тех же фолликул, являющимся по физиологическому признаку «гормоном беременности». Сочетанное действие обоих половых гормонов, объединяемых общим именем «женских сексуальных гормонов», определяет собою тот основной гормональный механизм, от которого зависят половые функции зрелой в половом отношении женщины, а также половой цикл и беременность у млекопитающих животных и, наконец, аналогичный процесс в мире растений.

Изложенный материал, однако, не исчерпывает веществ, которые относятся к так называемым «гормонам пола». Разобраны были специфические в смысле пола «женские» гормоны, позже будут рассмотрены «мужские», т. е. продукты специфических половых желез. Однако уже при раз-

боре схемы Шеллера и физиологического механизма действия «специфических половых гормонов» было установлено, что кроме них необходимо причислить к гормонам пола один из продуктов, вырабатываемых другой, не половой железой внутренней секреции, а именно «гипофизом» (Hypophysis).

Передние доли гипофиза выделяют гормон, задачей которого является стимулирование эндокринной деятельности в равной степени как женских, так и мужских половых желез. Очевидно тогда, что этот «гормон передних долей гипофиза» (HVL), называемый также «Пролаином» (Prolan) или «гонадотропным гормоном», является «неспецифическим половым гормоном», без участия которого половые железы не в состоянии нормально эндокринно функционировать, выделять «специфические гормоны пола». Благодаря влиянию пролана яичники способны вырабатывать «фолликулярный гормон», а яички — «тестикулярный гормон». Одновременно «гормон передних долей гипофиза» является «лутеинизирующим фактором» (см. схему Шеллера), который ведет к образованию желтого тела в яичнике, и следовательно, к выработке также и гормона corpus luteum. Получается картина весьма сложной и в то же время стройной регуляции и взаимной связанности гормонов пола.

Пролан приобретает значение «верховного» гормона обоих полов, действуя в одинаковой мере стимулирующим образом на половую систему мужчины и женщины. Цондек очень удачно проводит аналогию, когда утверждает, что «гормон передних долей гипофиза, есть мотор для сексуальной функции любого пола».

Я не буду подробнее здесь на нем останавливаться, это составит содержание отдельной главы настоящей работы.

МУЖСКИЕ СЕКСУАЛЬНЫЕ ГОРМОНЫ

Успех выделения достоверных и активных препаратов гормона яичек здесь, точно так же, как в предыдущем уже разобранном случае, определялся выработкой методов, которые позволили доказать специфический биологический эффект выделяемого вещества. Лишь после того, как такие методы биологического контроля были найдены, увенчались успехом и химические изыскания по выделению действующего принципа мужских половых желез. В 1927 году Левеи Фосс (Loewe — Voss) и независимо от них исследования Чикагской школы — Галлахера — Коха и Мура (Gallagher — Koch — Moore) привели к установлению прекрасного способа биологической оценки действия мужского полового гормона помощью петушиного гребешка. Одновременно те же авторы выделили активные

экстракты гормона путем обработки алкогольных вытяжек яичек бензолом с последующим осаждением действующего вещества ацетоном. Эти препараты были первыми, которые показали специфическое физиологическое действие и выдержали проверку на других биологических пробах штандартизации гормона, предложенных к тому же времени другими авторами (Пик—Pick, Букнер, Коренчевский и др.). Вслед за этими работами в 1929 году появились исследования Амстердамской школы (Лакер), английской (Функ и Гаррроу—Funk—Harrow), работы из Рио-де-Жанейро (Талес, Мартинс и Роха и Сильва — Rocha e Silva), которые предложили новые биологические пробы на гормон и вполне активные экстракты гормона. С этого времени начинается бесчисленное количество работ по описанию способов выделения мужского полового гормона и его доказательства на биологическом объекте.

Такой быстрый рост успехов в области изучения этого гормона определялся именно тем обстоятельством, что были найдены пригодные биологические пробы, а также тем, что проблема была взята под обстрел объединенными силами биологов совместно с специалистами химиками, ибо химические методы непригодны для достоверного доказательства гормонов. Этим возможно и объясняется, что такие выдающиеся эндокринологи, занимавшиеся чрезвычайно обстоятельно вопросами химии и биохимии мужского полового гормона, как, например, Бидль, Штейнах, Гармс, Пезар, не смогли получить сколько-нибудь пригодных препаратов мужского полового гормона.

Исходным материалом для выделения естественного гормона были яички, преимущественно от быков и других крупных животных. При этом большинством исследователей была установлена липоидная природа действующего вещества (Мак-Ги — Mc-Gee, Мур—Галлахер—Кох, Вундер — Wunder и др.). Наиболее активный препарат удалось при этом выделить Лакеру, а также Дингмансу, Бенуа (Benoit), Доддсу (Dodds), Мюнху (Münch), Коберу (Kober). Одновременно Леве и Функ (Loewe—Funk) доказали, что значительные количества мужского гормона можно найти в моче мужчин, с которой, очевидно, последний выводится. Предложенная ими хлороформная экстракция мочи с последующим принятием активного начала в оливковое масло была затем усовершенствована и улучшена с химической стороны Шеллером (Schoeller) и Герке (Gehrke). Выделенное последними «сырое масло» (Rohöl) оказалось весьма активным. Подтверждение эти работы нашли в физиологических исследованиях Кабака (Kabak), Уомак и Коха (Womack — Koch), Бюлера (Bühler) и др. Наличие мужского гормона было также установлено в крови у мужчин (Мак-Куллаг — Mc. Cullagh, Птачек и Мальчинский —

Ptaszek-Malczynski в кале, желчи и наконец, в растениях (Леве, Фосс и др.).

Особый интерес представляет на мой взгляд тот факт, что в женском организме был также найден мужской половой гормон и выделен даже из плаценты (Люхс — Luchs) одновременно в мужском организме (моча, кровь) было доказано наличие фолликулярного гормона и разработан поэтому метод фракционированного разделения обоих гормонов (Вадэн — Wadehn). Эти находки подтверждают, с одной стороны, выставленное уже мною выше предположение, что оба гормона образуются в одной и той же стадии процессов обмена веществ, аналогично идущего у обоих полов, и истоки которого, возможно, теряются в эмбриональном развитии организмов. С другой стороны, они убеждают и в сходстве чисто химическом обоих гормонов пола, несмотря на вызываемый ими противоположный физиологический эффект у противоположных полов.

Решительный шаг вперед, быстро приведший не только к решению химической природы мужского полового гормона, но и к его синтезу, дали работы Бутенандта (Butenandt), который в 1931 году выделил в кристаллическом состоянии и химически идентифицировал мужской половой гормон, названный им «тестикулярным гормоном». Препараты Фраттини (Frattini) и Маино (Maino), относящиеся примерно к тому же времени, были еще неочищенными и менее активными. Позднее Ружика и его школа (Ruzicka — Goldberg — Mayer — Brüngger — Eichenberger) получили синтетический мужской половой гормон, обозначенный ими как «Андростерон» —(Androsteron).

В отношении номенклатуры нет больших расхождений у ряда авторов. Естественному мужскому половому гормону, выделенному в чистом кристаллическом состоянии, присвоено название «тестикулярного гормона», в то время как идентичный ему синтетический продукт назван «Андростерон».

Патентованных названий для кристаллического «тестикулярного гормона» предложено чрезвычайно много, наиболее распространенным является наименование, предложенное фирмой Hoechst — «Erugon».

«Тестикулярный гормон» или «Testiculin», выделенный из экстрактов мочи мужчин, является кристаллическим, химически чистым продуктом внутренней секреции яичек (повидимому, семенных клеток и клеток Sertoli), содержащимся в последних, а также в крови, желчи, кале мужчины и самцов животных и в растениях. Этот препарат характеризуется специфическим физиологическим действием: он обусловливает рост и развитие мужских половых органов (первичные половые признаки); оказывает специфическое влияние на спермиогенез, усиливая продукцию, подвижность и длительность жизнедеятельности мужских семенных нитей; обусловливает полностью

сохранение и развитие вторичных половых признаков мужчины (волосяной покров лица, голос, размеры и форма гортани, «мужественность» и т. д.). Ему свойственно, наконец, усиление полового влечения и чувства и общий подъем жизненных функций и тонуса мужчины.

В биологических пробах на петушьем гребешке препараты дают активность в дозах от 150 до 200 γ. Как ниже будет показано, синтетические препараты оказались еще более активными.

Интересно сопоставить, исходя из этих доз, активность исходного и конечного продукта. Бутенандт показал, что 15 мгр «тестикулярного гормона» в кристаллическом состоянии соответствуют по своей биологической активности 25.000 литрам мочи мужчины, из которых этот кристаллизат был получен.

Оставался открытым до последнего времени вопрос о том, является ли выделенный гормон единственным или возможно ожидать также наличия и других гормонов мужской половой железы. В последнее время были получены различные не идентичные тестикулярному гормону вещества из мочи и яичек самцов, которые показывают специфическое физиологическое действие на биологических объектах, однако еще ни в одном случае эти вещества не были ближе идентифицированы с химической точки зрения (Бург — Bourg, Бюскэ — Busquet, Перитц — Peritz, Лоулес — Lawles и др.). В 1935 г. Лакер сообщил об открытии им второго гормона — Тестостерона, что было подтверждено дальнейшими исследованиями (Бутенандт). Для целей клиники достигнутые успехи имеют уже и теперь огромное значение, открывая реальные перспективы для развития новой области практической медицины — «гормонотерапии».

Заканчивая этим разбор всего материала, посвященного мужскому половому гормону, следует отметить еще исследования Дудлея—Розенгейма—Старлинга (Dudley—Rosenheim—Starling), Вреде (Wrede), Гаррисона (Harrison), Реденца (Redenz) и др., получивших из яичек и других органов кристаллический спермин формулы $C_{10}H_{26}N_4$ и спермидин — $C_7H_{19}N_3$, которые однако ничего общего с гормонами мужских половых желез не имеют и никакого специфического физиологического действия не оказывают ни на первичные, ни на вторичные половые признаки мужчины.

ГЛАВА ВТОРАЯ

ХИМИЯ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

Выделение в чистом кристаллическом виде половых гормонов позволило изучить их химические свойства, установить с достоверностью их структурную формулу и, наконец, осуществить синтез этих соединений. Кроме того, результаты химического изучения гормонов пола позволили связать их с обширным классом химических веществ и притти на этом основании к ряду важнейших обобщений. Все это показывает, насколько актуальным является в настоящее время вопрос о химической природе сексуальных гормонов, без углубленного знания которого едва ли возможно оценить во всей полноте те следствия, которые отсюда вытекают для биологии и биохимии вообще. Я не буду излагать имеющийся материал в исторической последовательности, но попытаюсь дать его в виде готовой сводки тех данных, которые в настоящее время вполне достоверно и окончательно установлены для химической характеристики сексуальных гормонов обоих полов.

Сексуальные гормоны, выделяемые половыми железами мужчин и женщин, являются телами «липоидной» природы и, как показало ближайшее их изучение, должны быть отнесены к стеринам, имея общую с ними кольчатую структуру. Они образуются в результате ступенчатой деградации животных и растительных стеринов, окисление которых ведет к отрыву боковой цепи и изменению насыщенности колец фенантренового ядра, лежащего в их основе. Этот процесс имеет прекрасную аналогию с превращениями эргостерина и холестерина. Генетическая связь сексуальных гормонов с животными и растительными стеринами следует также и из ряда физиологических наблюдений, которые показали, что некоторые стерины, примененные в больших дозах, могут вызывать идентичный эффект на животных. Выделенные Бутенандтом промежуточные продукты и спутники гормонов пола — «стерины беременности» являются чисто химическим доказательством сказанного.

Таким образом, общее химическое определение сексуальных гормонов может быть дано следующим образом: специфические гормоны пола являются различно

насыщенными тетрациклическими кетонами стеринового ряда и характеризуются общим для стеринов восстановленным ядром фенантрена, с короткой боковой цепью. Эти данные приводят к выводу о целесообразности объединения всех гормонов пола (мужских и женских) одним общим собирательным химическим именем «Стероны» (Sterone), оттенив этим их генезис и одновременно отношение к группе кетонов стеринового ряда. Тогда препараты женских сексуальных гормонов могут быть обозначены соответственно как «Фолликулостерон» (фолликулярный гормон — гормон течки) и «Лутеостерон» (гормон corpus luteum или гормон беременности). Для мужского полового гормона может быть или сохранено его оригинальное название «Андростерон», или, если принять предлагаемую более целесообразную химико-морфологическую номенклатуру, присвоено название «Тестикулостерон».

ЖЕНСКИЕ СЕКСУАЛЬНЫЕ ГОРМОНЫ

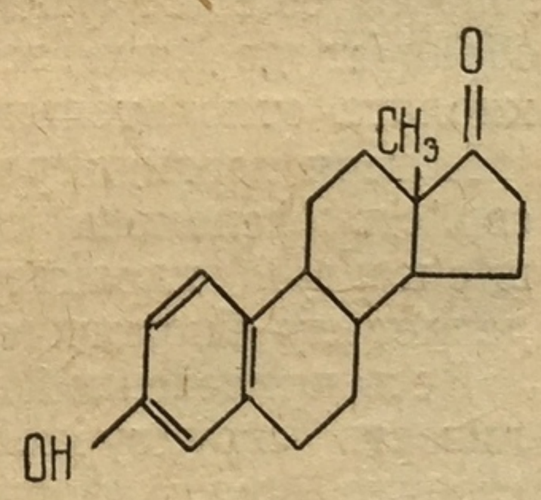
1. Фолликулостерон — α-фолликулярный гормон

Представляет собой свободное от азота, фосфора и серы органическое соединение, весьма трудно сжигаемое и по элементарному составу — C = 79,9% и H = 8,2% — отвечающее эмпирической формуле (M = 270):

$$C_{18}H_{22}O_2$$

Соответственно своей структурной формуле, фолликулостерон является трижды ненасыщенным, тетрациклическим оксикетоном.

Приводимая структурная формула доказывается химическими свойствами, поведением и образованием дериватов этого гормона. Для обоснования ее я воспользуюсь данными, которые одновременно показывают важнейшие химические функции этого соединения, обусловливающие его физиологическую активность (специфический эффект).



Фолликулостерон.

Функция кислородных атомов (O_2) является важнейшей для суждения о природе гормона. Хотя реакция гормона в кристаллическом состоянии нейтральная, тем не менее он ведет себя в отношении кислот и щелочей как лактон: не экстрагируется эфиром из щелочных растворов, но при подкислении минеральными кислотами немедленно выпадает в виде осадка. Этот лактонный характер гормона объяс-

няется кето-энольной таутомерией гормона, которая, как известно, дает группировку, аналогичную лактонной. Из нейтральной кето-формы при обработке щелочами образуется слабо кислая энольная форма. О том, что это действительно имеет место, говорит функция одного кислородного атома, который связан в виде карбонила (CO-группы). Последний доказывается образованием с гидроксиламином хорошо кристаллизующегося оксима, имеющего формулу $C_{18}H_{22}O$ (NOH) с точкой плавления 230—233 градусов, и при обработке гормона прочими реактивами на кетоны (семикарбазиды) — образованием семикарбазона с точкой плавления 258 градусов.

Алкогольный характер гормона вытекает из рассмотрения поведения второго кислородного атома. Он находится в виде гидроксильной OH-группы, что доказывается образованием ряда эстеров (ацетат, бензоат, фенилцианат, метиловый эфир). По исследованиям Бутенандта, наличие OH-группы определяет специфическое физиологическое действие гормона. Эстерификация OH-группы не инактивирует гормона, как это полагали Дуази—Ралльс и Иордан (Doisy—Ralls—Jordan), но протрагирует эффект действия гормона, очевидно, вследствие медленного омыления эстеров в организме и постепенного освобождения активной OH-группы.

Результаты гидрирования (по Шринеру) кристаллического гормона дают хорошо кристаллизующийся пергидрированный продукт формулы $C_{18}H_{30}O$, что доказывает наличие в гормоне трех ненасыщенных — двойных связей.

Путем восстановления гормона получается нейтральный дигидродезокси-дериват $C_{18}H_{25}OH$ (т. пл. 129°), из чего можно заключить о положении OH-группы у двойной связи (энольный характер). О легкости энолизирования кетогруппы говорит еще тот факт, что при определенных условиях гормон образует двойные эстеры (диэстеры) и ведет себя как слабая кислота относительно щелочей.

Потеря пергидрированным гормоном его физиологических свойств (феномена течки) позволяет считать, что ненасыщенный характер, наряду с наличием OH-группы, определяет его биологическое действие.

Весь приведенный фактический материал доказывает справедливость структурной формулы «фолликулостерона»: соответственно брутто формуле $C_{18}H_{22}O_2$ один кислород функционирует в виде легко эстерифицируемой OH-группы, а второй — в виде CO-группы. Следовательно, гормон представляет собой оксикетон, и имеет кроме того ненасыщенную группировку. Гидрированием три двойных связи гормона могут быть нацело насыщены при одновременной редукции кетогруппы. Продукту гидрирования — пергидрированному фол-

ликулостерону $C_{18}H_{30}O$ — соответствует углеводород $C_{18}H_{03}$, содержащий на 8 атомов H меньше, чем соответствующий насыщенный парафин, что обусловлено наличием или ароматического ядра, или четырех гидрированных колец. Формуле $C_{18}H_{22}O_2$ может отвечать только структурная группировка, приведенная выше, отвечающая ненасыщенному тетрацикличеcкому оксикетону.

Физиологическая активность гормона определяется следовательно ненасыщенным характером гормона и наличием свободных CO-и OH-групп. Нерасщепляемые организмом семикарбазоны недеятельны, в то время как оксимы, эстеры характеризуются своим растянутым действием, вследствие непрерывно идущего омыления и освобождения таким образом OH-группы.

По своему действию «кристаллический фолликулостерон» характеризуется специфическими для гормона течки признаками: превращением слизистой матки в «пролиферативную стадию», ростом первичных и вторичных половых признаков и антимаскулинным эффектом у самцов.

Физиологическая активность кристаллического гормона:

1 грамм=от 8 до 40 миллионов МЕ.

Физико-химическая характеристика относится к вполне однородным кристаллическим препаратам фолликулярного гормона, добытого Бутенандтом и Маррианом.

Имевшие место расхождения в константах у различных авторов имеют исторический интерес, они обусловлены различной чистотой полученных кристаллизатов гормона.

Изложены будут поэтому только те данные, которые могут считаться окончательно установленными как вполне достоверные, служащие для характеристики и идентифицирования кристаллического гормона.

Кристаллическая форма зависит от растворителя, скорости кристаллизации и температуры, при которой было произведено растворение. Растворимость кристаллического фолликулостерона в воде чрезвычайно ничтожна: 1 куб. см. насыщенного водного раствора гормона дает 150 МЕ, следовательно в 100 куб. см. воды при кипячении растворяется максимально 1,5 миллиграмма.

В алкоголе, ацетоне, хлороформе кристаллический гормон растворяется очень легко. В эфире, уксусно-этиловом эфире — труднее и очень трудно — в петролейном эфире. Из алкогольных и ацетоновых растворов легко выделить при прибавлении избытка воды кристаллический осадок гормона. Из растворов в эфире, хлороформе, бензоле осадок такого же рода выпадает при обработке петролейным эфиром.

Практически важна растворимость в любых пропорциях кристаллического гормона в растительных маслах (сезамовое, оливковое, прованское, льняное), однако для полного растворения необходимо масло подогреть. В отличие от горячих водных растворов, из которых избыток гормона при охлаждении снова выпадает, масляные растворы вполне устойчивы после их охлаждения.

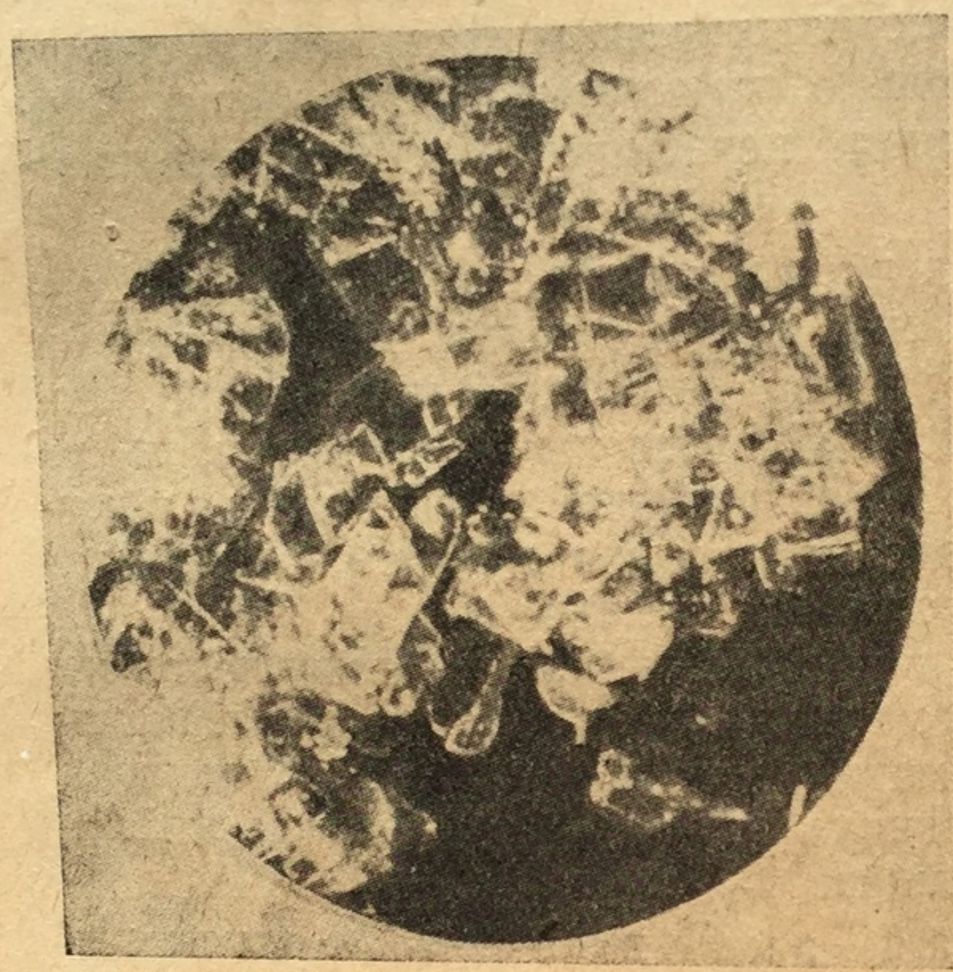


Рис. 50. Кристаллы фолликулостерона (*a* — фолликулярный гормон) выкристалл. из уксусно-этилового эфира.

Микроскопически кристаллы гормона отличаются своей анизотропией, в поляризованном свете дают при скрещенных николях характерный феномен двойного преломления. При быстрой кристаллизации из уксусноэтилового эфира образуются белые, блестящие ромбические листочки (рис. 50), при кристаллизации из разведенного алкоголя — тонкие иглы (рис. 51), а при весьма медленно идущей кристаллизации из разведенного алкоголя образуются древовидно разветвленные кристаллы, показанные на рис. 52.

Подробная кристаллохимическая характеристика «фолликулостерона» произведена Бернале (Bernal) и Нейгаусом (Neuhaus). Они исходили из того положения, что молекулярная рефракция органических соединений при изменении аггрегатного состояния «жидкое»: «твердое» должна быть тождественной вследствие того, что форма молекулы сохра-

Рис. 51. Кристаллы фолликулостерона (α-фолликулярный гормон) выкристалл. из разведенного алкоголя. (по Бутенандту).

няется длительное время. Полученные ими данные приведены на нижеследующей таблице 1.

Таблица 1

Свойства	α- фолликулярн. гормон кристалл.		
	Ромбическ. кристаллы (метастаб)	Моноклиническ. крист. (метастаб.)	Ромбическ. кристаллы (стабильн.)
Брутто-формула	$C_{18}H_{22}O_2$	$C_{18}H_{22}O_2$	$C_{18}H_{22}O_2$
Точка плавления	254°	256°	259°
S. (метод колеб. 24°)	1,236±0,005	1.232±0,005	1.228±0,005
S. (Рентген)	1,24	1,24	1,22
$n_m = \sqrt[3]{\alpha.\beta.\gamma}$	1,623	1.616±0,002	1,608
Молекул. рефракция эксперимент. найденная	76,3	76,4	76,8
Молекул. рефракция (теоретич. расчет)	76,5	76,5	76,5

Примечание: n_m — средний экспонент преломления, который введен в формулу Lorentz-Lorenz'a как величина (n); молекулярная рефракция, экспериментально найденная, вычислялась по формуле Lorentz-Lorenz'a. Детали методики изложены в работах Нейгауса, помещенных в Zeitschrift für Krystallographie, Bd. 89, Hf. 1, (1934).

Величины молекулярной рефракции фолликулостерона в трех его кристаллических формах столь мало отличаются друг от друга, что говорить о достоверной возможности полиморфизма, едва ли имеет смысл. С другой стороны, сопоставление величин молекулярной рефракции с установленными инкрементами рефракции для C=2.418; H=1.100; 0′ (типа гидроокиси)=1.525; O <=1.643 (типа эфиров); 0″=2.211 (типа кетонов) является лишним доказательством и подтверждением выставленной эмпирической и структурной формулы α-фолликулярного гормона Оптические свойства кристаллического гормона характеризуются прежде всего способностью вращать плоскость поляризации. В хлороформных растворах он показывает правое вращение:

$$\left[\alpha\right]_D^{18^\circ} = +156^\circ$$

(раствор 0,018 гр кристал. гормона в 2 кб см хлороформа при 18° С).

Изучение спектров поглощения в ультрафиолете показало весьма характерную ультрафиолетовую абсорпцию, максимум которой лежит при 280 — 285 mμ (рис. 53). Принимая абсорпционный коэффициент для большинства соединений стеринового ряда, лежащим примерно, при 280 mμ и, сравнивая его с величиной максимума ультрафиолетовой абсорпции, полученной для

фолликулостерона, не трудно убедиться в идентичности кольчатого скелета обоих соединений, характеризующегося фенантреновой природой. Характерно, что промеры ультрафиолетового поглощения удаются здесь, так же как и для холестерина и его производных, только в эфирных и алкогольных растворах; растворы в ацетоне не дают эффекта вследствие абсорпции последнего, примерно, в тех же длинах волн.

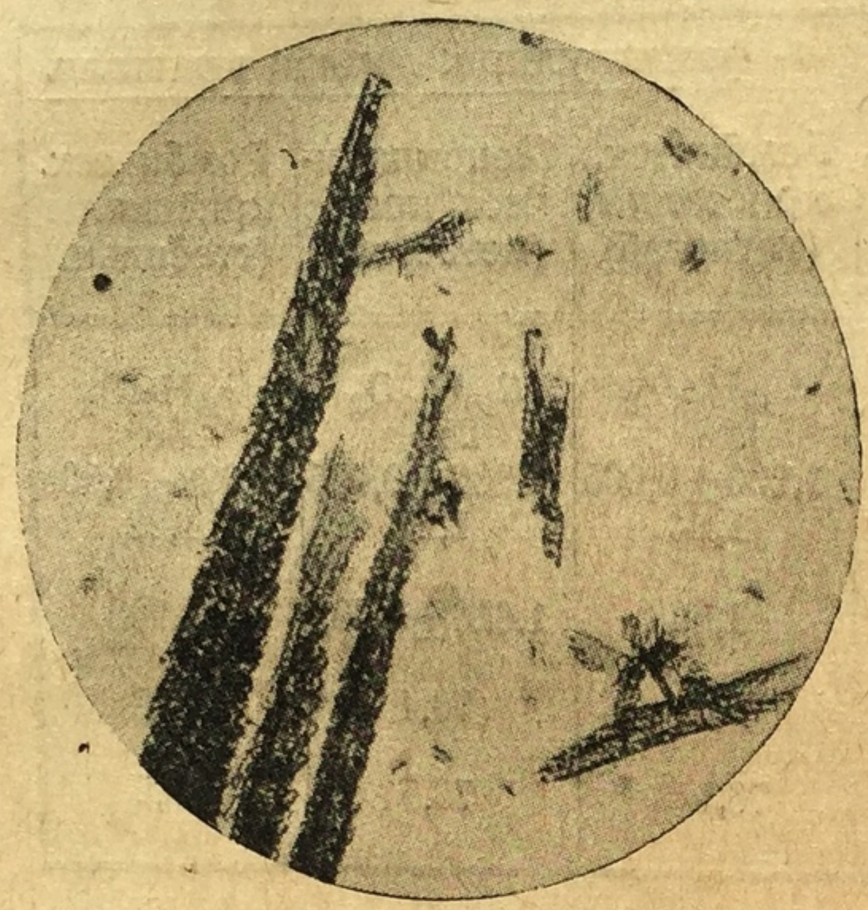


Рис. 52. Кристаллы фолликулостерона (*a*—фолликулярный гормон) выкристалл. из разведенного алкоголя — медленная кристаллизация (по Бутенандту).

Плавкость препаратов фолликулостерона является характеристической константой. Для кристаллов различной формы имеют место колебания в пределах нескольких градусов. В общем надо принять для кристаллического гормона, выкристаллизованного из разведенного алкоголя точку плавления=250—251°(корригир). Соответственно не корригированные величины для препаратов фолликулостерона будут следующими:

Моноклинические, метастабильные кристаллы имеют точку плавления 256°.

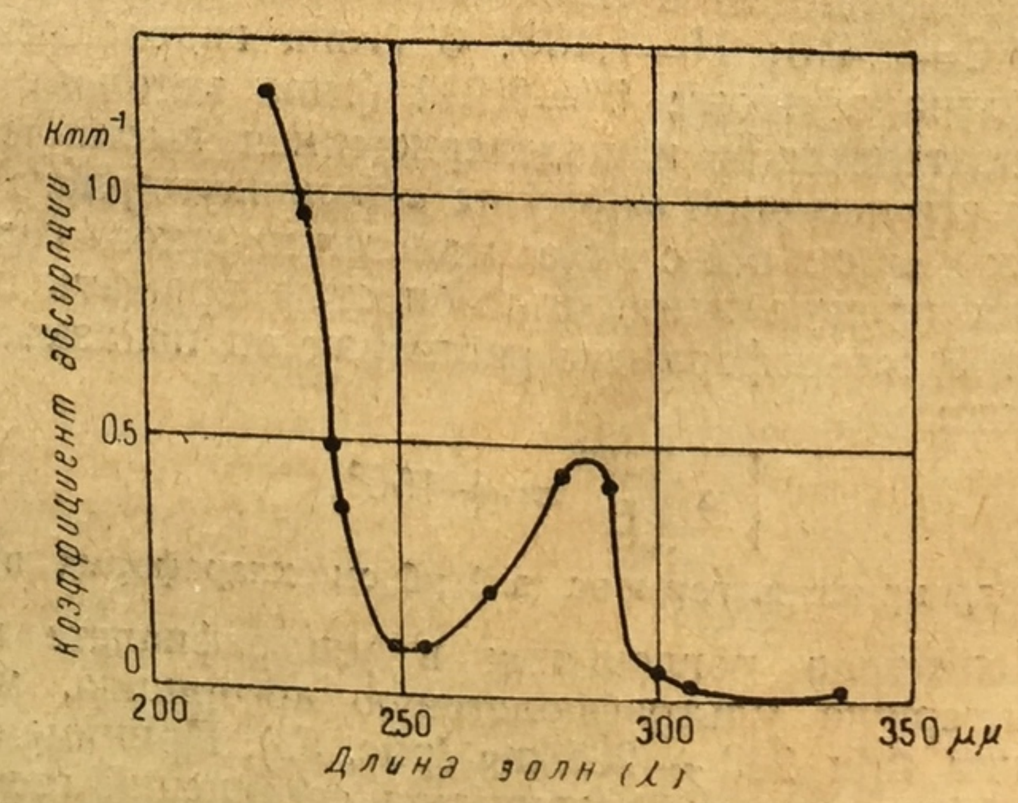


Рис. 53. Кривая абсорпции крист. фолликулостерона в ультрафиолете (монохроматор Поля) — 0,027% cgm. алкогольный раствор стерона.

Ромбические, метастабильные кристаллы имеют точку плавления 254°.

Те же но стабильные кристаллы имеют точку плавления 259°

Приведенные значения плавкости зависят от того, что на величину точки плавления кристаллического гормона влияет главным образом растворитель, из которого последний выкристаллизовывается, а затем скорость кристаллизации, обусловливающая ту или иную кристаллическую его форму. Дело заключается здесь в своего рода «псевдополиморфизме», зависящем, возможно и от гидратной воды. Исследование депрессии плавкости смесей кристаллов фолликулостерона, произведенное по методу Рейнбольдта (Rheinboldt) с целью установить возможность образования смешанных кристаллов, показало полное совпадение точек растопления и полного плавления. Отсутствует даже намек на депрессию (рис. 54).

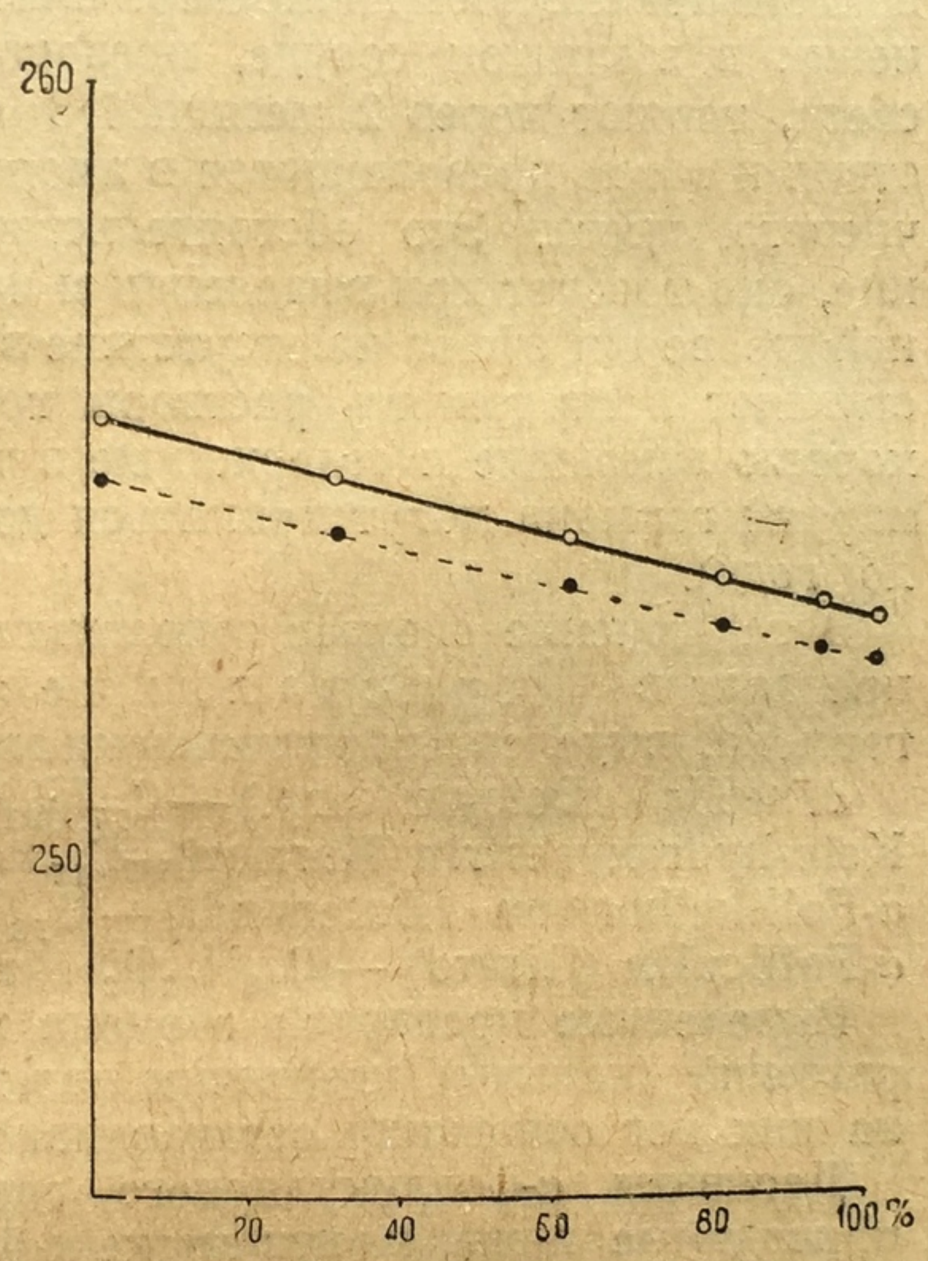


Рис. 54. Кривые плавкости фолликулостерона. Смесь кристаллов с т. пл. 254° и с т. пл. 256,5°. Пунктирная кривая — точки растопления, сплошная кривая — точки полного плавления.

Существенным фактором, как будет видно при разборе препаративной химии этого гормона, является температура вакуумной сублимации, при которой осуществляется разгонка фракций кристаллического гормона. Возможно при этом выделить ряд фракций одинаковых по силе физиологического действия, но с различными точками плавления, что находит свое объяснение в различной кристаллической форме полученного кристаллизата. Реакции и свойства кристаллического гормона вытекают из разобранных выше функций его кислородных атомов. Специфических или характерных химических реакций (цветных или осаждения), не найдено. Предложенная цветная реакция на гормон Лакером, Дингмансом, Де-Ионгом и Кобером (Laquer-De-Jongh-Kober), состоящая в реакции фенолсульфокислоты в сернокислом растворе, позволяющая проводить калориметрирование, не может считаться специфичной и достаточно чувствительной, и тем более — подобная же цветная

реакция, предложенная Швенком и Гильдебрандтом (Schwenk-Hildebrandt), общая вообще для соединений, содержащих холановые кольца. Чистый кристаллический фолликулостерон дает отрицательные реакции Сальковского, Либермана-Бурхарда, Дениже и др., характерные для холестерина.

Важным свойством гормона является его необычайная чувствительность к перекисям и кислороду воздуха. Легкую окисляемость при хранении на воздухе показывает следующий пример: алкогольные растворы при хранении в закрытом сосуде, предоставленные, правда, действию света, теряют через 2 месяца 1/3 своего первоначального действия и затем превращаются в аморфную смолистую массу коричневого цвета. Это обстоятельство имеет практическое значение, оно требует при выделении и растворении гормона постоянной проверки эфира на отсутствие в нем перекисей, а также заставляет приготовлять растворы гормона «ex tempore». Сухие, хорошо закрытые и содержимые в темноте кристаллические препараты гормона могут храниться достаточно долгое время (около года).

В заключение следует сопоставить некоторые константы для препаратов кристаллического α-фолликулярного гормона, выделенных различными авторами:

«Theelin» (Doisy и сотр.) — $C_{17}H_{21}OH(CO)$ т. пл. 243° не корр.
Keto-hydroxyoestrin (Marrian)—$C_{17}H_{21}OH(CO)$ т. пл. 255° не корр.
α-Follikelhormon (Butenandt) — $C_{18}H_{22}O_2$ т. пл. 251° корр.
α-Folliculin (Girard) — $C_{18}H_{22}O_2$ т. пл. 250° корр.

Выделенные препараты гормона из мочи кобыл, из плодов растений (пальмы) идентичны изложенному выше препарату и на них нет оснований останавливаться подробнее.

Дериваты α-фолликулярного гормона (фолликулостерона), приводимые ниже, имеют также и физиологический интерес. В первую очередь следует рассмотреть *эстеры фолликулостерона*.

Фолликулостерон-ацетат (Follikulosteron-acetylester) — физиологически активен, получается в кристаллическом виде путем обработки 17 мгр кристаллич. фолликулостерона, растворенного в 0.6 куб. см. безводного пиридина, ангидридом уксусной кислоты, на холоду. По истечении 48 часов к смеси прибавляется около 20 кб. см. серной кислоты (1: 5), продукт оставляется при 0° до тех пор, пока не выделится медленно кристаллизующееся масло. После фильтрации кристаллический эстер легко перекристаллизовывается из разведенного алкоголя.

Кристаллическая форма эстера ясна при рассмотрении рис. 55. Это собирающиеся в розетки иглы и листочки с характерным преломлением по краям.

Брутто формула ацетатного эстера $C_{20}H_{24}O_3$. Точка плавления 111—112° (расплавляется в мутный плав, который при 126° становится вполне прозрачным).

Бромацетильный дериват эстера $C_{20}H_{23}O_3Br$ содержит 20,43% брома и имеет т. пл. 133—147°. Физиологическое действие ацетатного эстера затянуто, а в остальном —идентично действию чистого гормона.

Фолликулостерон-бензоат (Follikulosteron — benzoat-ester) физиологически активен, получается из кристаллического гормона следующим путем: 10 мгр гормона растворяется при нагревании в 10 куб. см. 10% едкой щелочи, после охлаждения, к смеси при постоянном встряхивании прибавляется до 1 куб. см. хлористого бензоила. Смесь беспрерывно встряхивается, вначале на холоду (до $^1/_4$ часа), затем — при небольшом нагревании (около 5 мин.). При охлаждении выпадает полукристаллический осадок эстера, который принимается в хлороформ и выделяется из раствора прибавлением капли петролейного эфира. При перекристаллизации из разведенного алкоголя выходят тонкие, длинные, белые призмы или бесцветные иглы с т. плавления 211—212°. Брутто-формула: — $C_{25}H_{26}O_3$. Физиологическое действие превосходит по силе, чистый гормон и отличается затянутостью. Однократная инъекция 1γ вызывает у мышей эффект длительной течки в течение 11—16 дней.

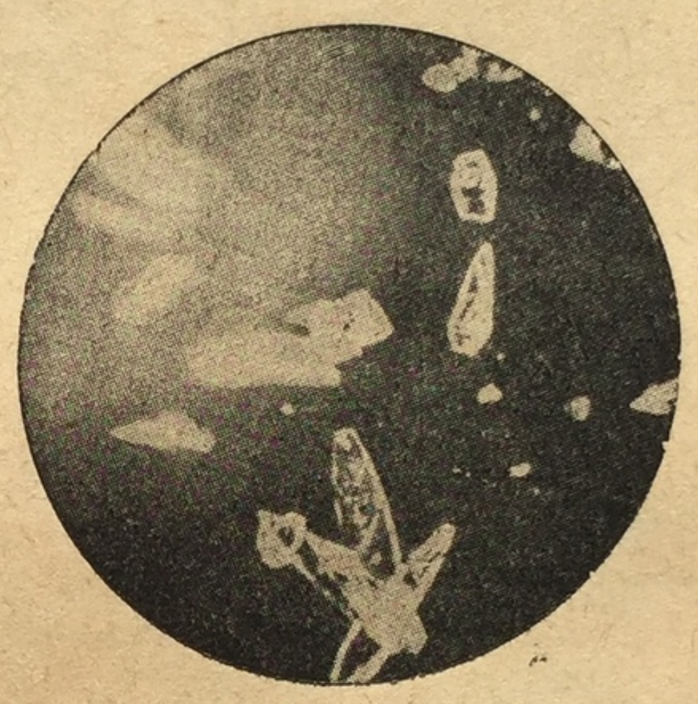


Рис. 55. Кристаллы ацеттаа фолликулостерона, выкрист. из разведенного алкоголя.

Фолликулостерон-эстер - фенилцианат (Follikulosteronphenylcyanat-ester) — также физиологически активен, однако, его действие ослабевает в 4 раза по сравнению с чистым гормоном и еще более затянуто. Имеет, повидимому, также побочный эффект.

Фолликулостерон-метиловый эфир получается диазотированием чистого гормона, имеет брутто-формулу $C_{18}H_{24}O_3$ и выделен в кристаллическом виде (т. п. 168°); физиологически не активен, вероятно вследствие его трудной расщепляемости в организме.

Фолликулостерон-оксим. получаемый действием гидроксиламина на кристаллический гормон, имеет брутто-формулу $C_{18}H_{22}O$ (NOH), кристаллизуется из 70° алкоголя в иглах с т. пл. 230.° Физиологически активен, отличается более слабым и сильно затянутым действием.

Фолликулостерон-семикарбазон получается осаждением этанольных растворов кристаллического гормона уксуснокислым раствором солянокислого семикарбазида. Результируют тонкие иглы с т. пл. 245—246°, брутто-формулы $C_{19}H_{25}O_2N_3$. Физиологически инактивен.

Кроме того были выделены также физиологически неактивные семикарбазоны эстеров гормона:

Семикарбазон-ацетатн. эстера т. пл. 265°

» бензоатн. эстера т. п. 278°

» монометил. эфира т. пл. 267°

Они представляют интерес только с препаративной точки зрения.

Фолликулостерон-пергидрат представляет собой пергидрированный гормон, получаемый путем гидрирования по Шринеру. Брутто-формула $C_{18}H_{30}O$, хорошо кристаллизуется из разведенного алкоголя (рис. 56) в виде древовидных кристаллов с т. пл. 104°.

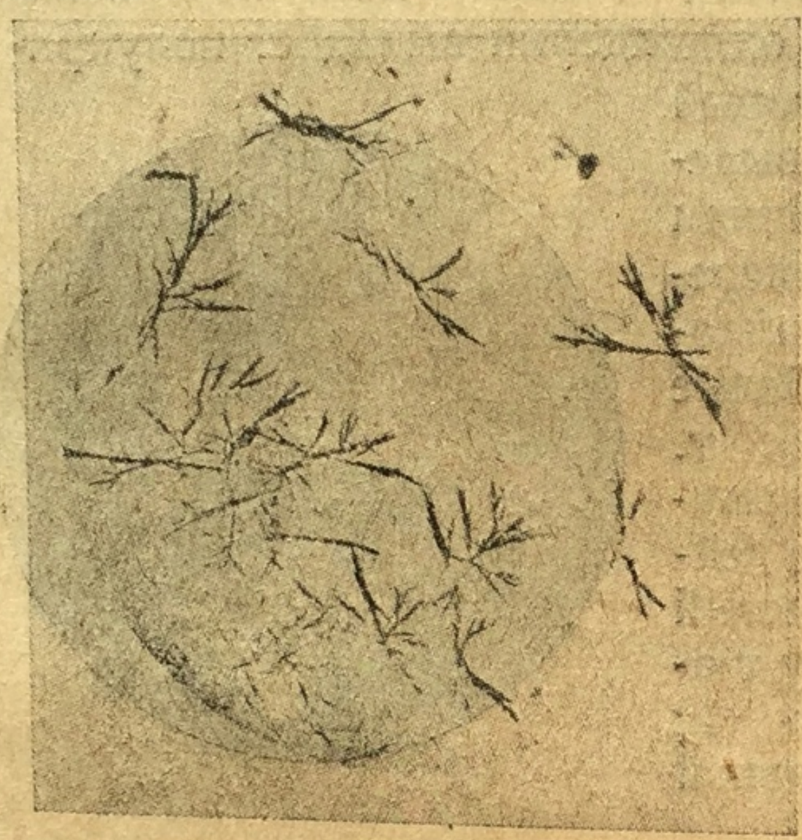


Рис. 56. Кристаллы пергидрированного фолликулостерона (из разведенного алкоголя).

Физиологически совершенно инактивен и является насыщенным производным α-фолликулярного гормона. На остальных соединениях нет смысла останавливаться подробнее, так как они не имеют существенного значения.

2. Производные α-фолликулярного гормона

ГИДРАТ — α-ФОЛЛИКУЛЯРНОГО ГОРМОМА

Представляет собой выделенный впервые Маррианом физиологически активный кристаллизат из мочи беременных, действующий аналогично фолликулостерону, но химически отличный от него.

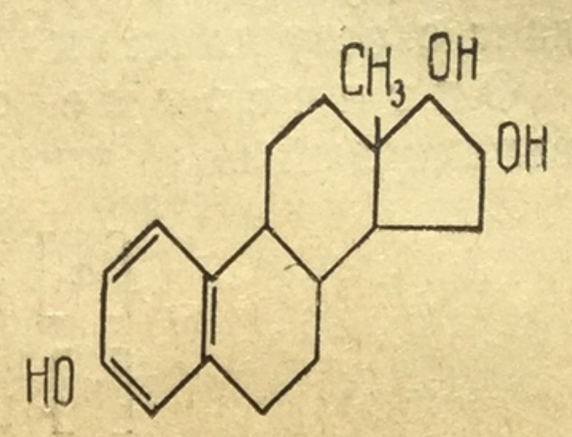
Дальнейшее изучение этого препарата Бутенандтом показало, что речь идет не о новом гормоне, но всего лишь о его деривате, который был охарактеризован как моногидрат.

По исследованиям Марриана и Бутенандта он отвечает брутто-формуле $C_{18}H_{24}O_3$, причем все три кислородных атома в этом деривате связаны в виде OH—группы, что доказывается легким образованием триацетата $C_{18}H_{21}(COOCH_3)_3$ с т. пл. 120—122°.

По данной Маррианом, Доддсом и Бутенандтом конституциональной формуле (I) гидрат α-фолликулярного гормона является тригидро-оксифолликулостероном, содержит две алкогольных OH-группы, и одну фенольную OH-группу. Предположенная вначале система трех колец, в основе которой лежало частично гидрированное

ядро фенантрена, не подтвердилась дальнейшими исследованиями.

Фолликулостерон-гидрат не образуется из фолликулостерона путем присоединения к нему 1 молекулы H_2O, но находится уже как таковой в моче беременных. Путем чисто химической его обработки легко отнять от него воду (применение бисульфита калия и др. водоотнимающих веществ) и получить чистый гормон по реакции:



(I.)

$$C_{18}H_{24}O_3—(H_2O)=C_{18}H_{22}O_2.$$

Если учесть при этом, что гидрат очень слабо активен (200.000 МЕ на 1 грамм), то становится очевидной найденная возможность химической и очень легкой реакцией увеличить физиологическую активность препарата до нескольких миллионов единиц, соответствующих чистому гормону. Эта реакция убеждает также, что фолликулостерон $C_{18}H_{22}O_2$ есть действительно подлинный женский сексуальный гормон, а гидрат его—лишь производное.

Физиологическая активность гидрата по Марриану (т. пл. 269°)=1,5 миллиона МЕ по Бутенандту (т. пл. 260°)=200.000 МЕ.

Физико-химическая характеристика идентифицированных Маррианом и Бутенандтом кристаллических препаратов гидрата является важной для сравнения с чистым гормоном.

Гидрат отличается необычайно плохой растворимостью во всех органических растворителях. Наибольшей растворяющей силою обладает эфир, затем хлорофором и ацетон. Кристаллическая форма при медленной кристаллизации из водного этанола или из уксусно-этилового эфира — ромбические, белые листки (рис. 57), при быстрой кристаллизации–призмочки.

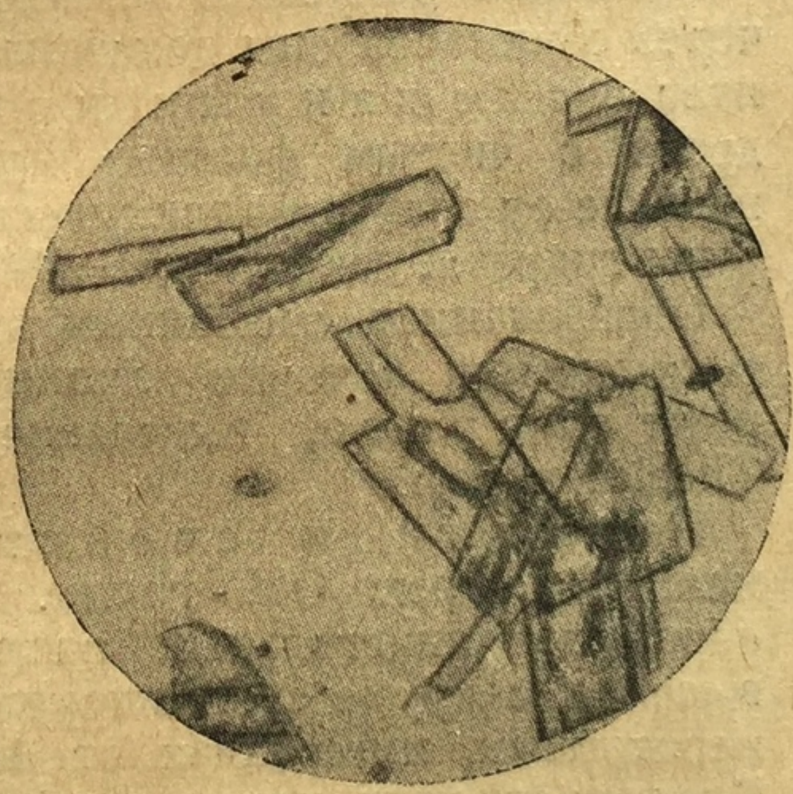


Рис. 57. Кристаллы гидрата фолликулостерона, выкрист. из уксусно-этилового эфира.

Кристаллографические свойства следуют из данных Нейгауса:

Фолликулостерон-гидрат;

$C_{18}H_{24}O_3$ т. п-280°:

S. (Рентген)=1,27

$n_m = \sqrt[3]{\alpha.\ \beta.\ \gamma} = 1.619$
Мол. рефр. (экспер.)=79,6
Мол. рефр. (теор.) =79,7

Молекулярная рефракция по Бутенандту=79.55, что совпадает с результатами Нейгауса.

Оптические свойства гидрата определяются величинами вращения плоскости поляризации:

$$[\alpha]_D^{18^\circ} = +38^\circ \text{ (Марриан)}$$

$$[\alpha]_D^{18^\circ} = +30^\circ \text{ (Тавастшерна)}$$

$$[\alpha]_D^{18^\circ} = +34{,}4 \text{ (Бутенандт)}$$

Поглощение в ультрафиолете дает совершенно идентичную чистому гормону кривую с максимумом селективной абсорпции при 280—285 mμ.

Плавкость препаратов кристаллического гидрата была некоторое время предметом сомнений его однородности. Препараты Марриана давали т. пл. 263—266°; 268—269°; 275—276°; гидрат выделенный, Бутенандтом, показал т. пл. 276—280°.

Проверка депрессии плавкости после превращений (очистка) через семикарбазоны доказала, что в большинстве случаев дело идет о смешанных кристаллизатах чистого гидрата с чистым фолликулярным гормоном. Тщательно очищенные от следов фолликулостерона, вполне однородные препараты гидрата, дают т. пл.=280° (не корригир.).

Образованием смешанных кристаллов объясняются также те расхождения в точке плавления, которые показывают препараты гидрата, выделенного другими авторами (Emmenin, Theelol и др.).

Реакции и свойства гидрата определяются наличием трех OH-групп. Он весьма стоек, выдерживает обработку алкогольным раствором HCl и при перегонке в высоком вакууме сублимируется без всякого разложения в температурных интервалах от 165 до 200° и от 250 до 260°. Следует отметить легкое образование гидрозолей (Ремезов, Адам-Даниелли-Гаслевуд), дающих безупречные мономолекулярные поверхностно-активные пленки, изучение которых подтвердило конституциональные признаки гидрата.

Перевод гидрата в фолликулярный гормон представляет, как уже указывалось, важную реакцию препаративной химии гормонов, которая по Бутенандту осуществляется довольно просто: 12 мгр кристаллического гидрата растирается в агатовой ступке с 500 мгр бисульфита калия, смесь помещается

в вакуумную реторту микросублиматора и при вакууме 0,002 мм держится около 2—3 часов при +110° С. Затем медленно в течение 5 часов температура доводится до 180—200°. В этом температурном промежутке сублимируется чистый фолликулостерон.

Из производных гидрата следует упомянуть следующие:

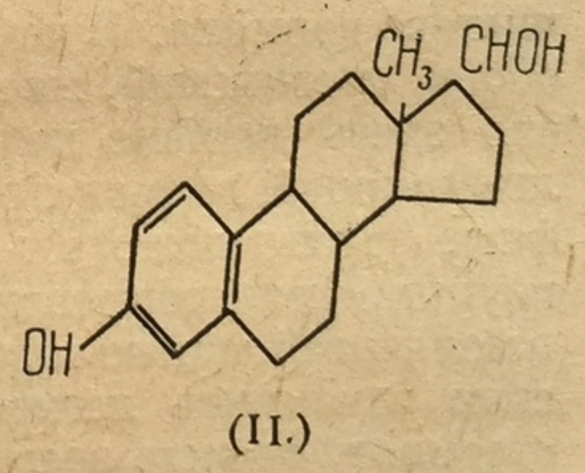
Триацетат—фолликулостеронгидрата получается осаждением этаноловых растворов гидрата уксусным ангидридом. Брутто-формула $C_{18}H_{21}(CH_3COO)_3$, кристаллы в виде игл с т. плавления 120—122° физиологически очень слабо активны и отличаются длительным до месяца тянущимся действием.

Монометиловый эфир фолликулостеронгидрата получается диазотированием кристаллического, гидрата диазометаном, взятым в избытке: имеет формулу $C_{19}H_{26}O_3$ и дает величины оптического вращения в пиридине, идентичные чистому гидрату $[\alpha]^{18}_{Д} = +34,7$. Кристаллизуется в тонких листочках с т. пл. 290°. Физиологически инактивен.

Прочие соединения гидрата не имеют практического и особого теоретического интереса.

ДИГИДРО-ФОЛЛИКУЛОСТЕРОН (ДИГИДРО-α-ФОЛЛИКУЛЯРНЫЙ ГОРМОН)

Этот препарат был выделен Швенком и Гильдебрандтом (Schwenk-Hildebrandt), а также Бутенандтом, Жираром и Маррианом. По эмпирическому составу он соответствует формуле $C_{18}H_{21}(OH)_2$ и имеет формулу строения следующего вида: (II.)



(II.)

Образуется путем восстановления чистого гормона и физиологически по данным Швенка и Гильдебрандта значительно более активен, нежели чистый фолликулостерон. По своим химическим свойствам он приближается к гидрату гормона, однако, лучше растворим в органических растворителях, кристаллическая форма совпадает с кристаллами чистого гормона и показывает точку плавления при 168—170°. Поглощение в ультрафиолете дает тот же максимум при 280—285 mμ. Образование производных вытекает из его конституциональной формулы.

Помимо дигидродеривата гормона были получены Маррианом, Бутенандтом и их сотрудниками еще многие другие дигидродериваты, представляющие значительно меньший интерес, физиологическая активность которых стоит несравненно ниже чи-

стого гормона. Заслуживают быть упомянутыми следующие дигидро-производные: Дезоксо-фолликулостерон $C_{18}H_{23}(OH)$ Гексагидро-фолликулостерон $C_{18}H_{29}(OH)$ Гексагидро-фолликулостерон-гидрат $C_{18}H_{27}(OH)_3$ Гексагидро-дигидрооокси-фолликулостерон $C_{18}H_{28}(OH)_2$.

Все они обладают более или менее выраженным физиологическим действием и имеют тот интерес, что позволяют сопоставить «хемотерапевтический индекс» с особенностями замещения ОН-групп и их положения в ядре. Сделать, однако, отсюда выводы пока не представляется возможным вследствие того, что биологические пробы с этими производными не всегда были равноценными по примененной методике, а поэтому с трудом могут быть между собою сопоставлены.

ИЗОМЕРЫ ФОЛЛИКУЛОСТЕРОНА

Вопрос о самостоятельной природе изомеров фолликулярного гормона, несмотря на их выделение едва ли может быть окончательно решен. Несомненно наличие этих соединений в моче беременных кобыл. Возможно получить β-изомер чисто химическим путем, отнимая воду от гидрата гормона (реакция с бисульфитом калия, приведенная выше). Доказать существование изомеров в моче беременных женщин или в другом человеческом материале пока еще достоверно не удалось.

По эмпирическому составу оба изомера повидимому отвечают брутто-формуле чистого гормона $C_{18}H_{22}O_2$

В конституциональном отношении дело идет о тех же СО— и ОН-группах, расположенных в кольцевом скелете, как и у чистого гормона. В чем заключается стехиометрическое различие обоих соединений, еще не удалось доказать, весьма возможно, что здесь вообще нельзя и говорить об изомерии; β-и δ-фолликулярный гормон представляют, может быть, просто полиморфные формы чистого гормона. Я лично склонен скорее принять группировки, сопровождающиеся перемещением двойных связей в кольчатой основе гормона. Последнее приобретает вероятность, если вспомнить легкость таких перемещений среди животных стеринов, прежде всего в ряду холестерина и его производных. Дальнейшие исследования в этом направлении, с использованием уже достаточного опыта из химии холестерина, весьма желательны, ибо позволят решить вопрос окончательно.

На таблице 2 приведено сопоставление физико-химических констант, для β-и-δ изомеров.

Важным является то обстоятельство, что изомеры физиологически, значительно слабее, чем чистый α-фолликулярный гормон, а потому и значение их отходит на второй план по сравнению с основным препаратом гормона.

В заключение необходимо указать еще на препараты, занимающие несколько особое место, выделенные французскими исследователями Жираром, Сандулеско и др.

Таблица 2

Наименование	Брутто-формула	Характеристические группы	Точка плавления	Оптическое вращение	Максимум селективной абсорпции У. Ф.	Физиологич. активность 1 грм в МЕ.
β-фоллику-лостерон	$C_{18}H_{22}O_2$	1 группа C=O 1 группа OH	257°	+166° (хлороф.)	280—285 mμ	до 2 мил.
δ - фоллику-лостерон	$C_{18}H_{22}O_2$	1 группа C=O 1 группа OH	209°	+46° (хлороф.)	180—285 mμ	до 5 мил.

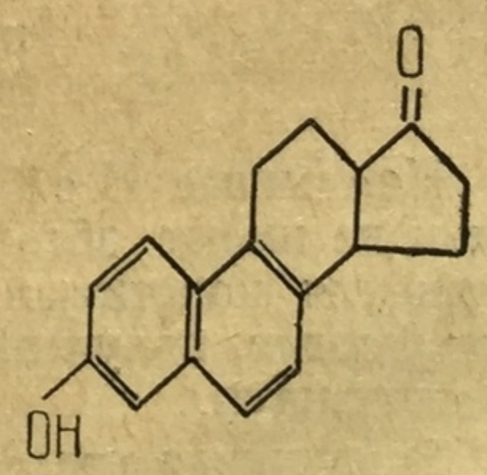
ЭКВИЛЕНИН (EQUILENIN) ЖИРАРА

Выделенный из мочи кобыл Жираром и его сотрудниками препарат, названный им Equilenin, представляет собою, повидимому, переходную форму фолликулярного гормона к его менее активным дериватам.

По эмпирическому составу эквиленин соответствует брутто-формуле

$$C_{18}H_{18}O_2$$

содержит так же, как и фолликулярный гормон, одну CO-группу и одну OH-группу. Судя по образованию им ряда замещенных и продуктов расщепления, повидимому, ему следует приписать конституциональную формулу (III.) с двумя ароматизированными кольцами. Физико-химические свойства и константы этого соединения отличны от α-фолликулостерона, причем оно показывает низкий физиологический эффект.



(III.)

Плавкость кристаллов (листки) не острая, точка плавления колеблется от 256 до 259°.

Оптические свойства характеризуются величиной вращения $[\alpha]_D^{18°} = +87^0$ (в диоксане)

Максимум селективной абсорпции в ультрафиолете приходится при 284 $m\mu$. Физиологическая активность колеблется в пределах от 400.000 до 700.000 ME. pro грамм.

Помимо эквиленина те же авторы выделили еще другие кристаллизаты. Общая сводка данных по ним приведена в нижеследующей таблице 3:

Таблица 3

Наименование	Брутто-формула	Характеристические группы	Точка плавления	Оптическое вращение	Максимум поглощения в у. ф.	Физиологическая активность в ME pro грамм
Гиппулин (Hippulin)	$C_{18}H_{20}O_2$	1 группа C-O 1 группа OH	233°	+128 (диоксан)	284 $m\mu$	1,2 милл.
Эквилин (Equilin)	$C_{18}H_{20}O_2$	1 группа C-O 1 группа OH	238—240°	+308° (диоксан)	284 $m\mu$	1,2 милл.

Решить вопрос о природе и характере приведенных соединений пока не представляется возможным, необходимы дальнейшие и вполне безупречные исследования. Однако, с большой долей вероятности можно думать о том, что речь идет в обоих случаях или о недостаточно очищенных препаратах фолликулярного гормона, или о продуктах его присоединения. За это говорят также кристаллографические измерения Нейгауса, который установил для эквилина следующие величины:

$$S.—(\text{рентген}) = 1{,}29$$
$$n_m = \sqrt[3]{\alpha \cdot \beta \cdot \gamma} = 1.637$$
$$\text{Мол. рефр. (экспер.)} = 74{,}3.$$

Найденные Нейгаусом величины молекулярной рефракции не имеют абсолютного значения, так как требуют еще выяснения конституция и формула строения эквилина, но от данных, полученных для фолликулярного гормона, они резко отличаются.

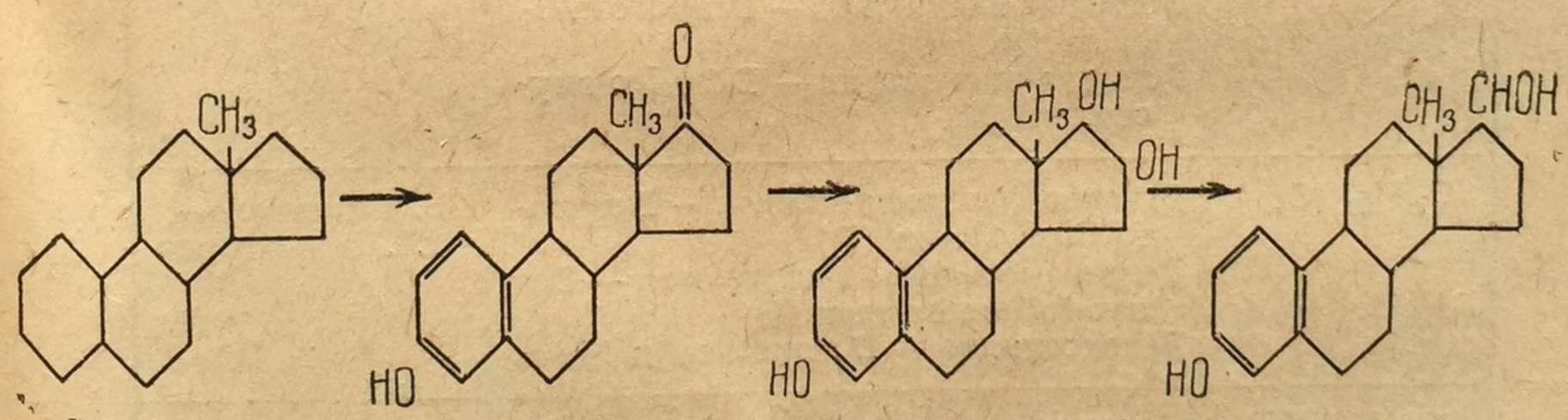
Заканчивая этим обзор важнейших производных фолликулярного гормона, я перейду к вопросу химического генезиса этого гормона в смысле работ Адама (Adam), Розенгейма (Rosenheim) и прочих английских исследователей.

3. Химический генезис фолликулярного гормона

Установление химической формулы кристаллического фолликулярного гормона и сопоставление ее с кольцевой системой стеринов, так же как и способность стеринов вызывать феномен течки у животных (эргостерин, кальциферолъ, неоэргостерин, карциногенные смолы) — все это привело английских исследователей — Адама, Даниелли, Доддса, Кинга, Марриана, Паркса и Розенгейма к мысли обобщить имеющийся материал путем введения родоначального стерина, из которого можно вывести вещества, вызывающие течку.

Исходя из новой структурной формулы, лежащей в основе холановых кислот и стеринов животного и растительного мира, эти авторы ввели в качестве родоначального углеводорода — насыщенный стерин Эстран (Oestrane). В основе кольцевой системы этого соединения лежит восстановленное ядро фенантрена. Доказательство, что фолликулярный гормон в своем кольчатом скелете имеет то же ядро фенантрена, было дано в свое время работами Бутенандта — Вейдлиха и Томпсона (Butenandt — Weidlich — Thompson), которые в качестве одного из продуктов превращения α-фолликулярного гормона доказали образование 1,2-диметилфенантрена, близкого к синтетическому продукту Кука и Хьюетта (Cook — Hewett) — $C_{17}H_{14}$ и к циклопентенофенантрену, полученному при селеновом окислении этиобилиановой кислоты по Дильсу.

Образование фолликулярного гормона и его дериватов (гидрата, дигидродериватов) следует тогда при сопоставлении формул строения этих соединений и эстрана:



Для гормона течки — фолликулостерона — те же авторы предложили название Эстрон (Oestron), для гидрата — Эстриоль (Oestriol). Если, однако, учесть, что и французские и немецкие исследователи дали тоже свои наименования, то в результате получается необычайно запутанная вереница названий для одного и того же вещества.

В таблице 4 приводится в окончательном виде сводка наиболее употребительных названий, предложенных для α-фолликуляр-

Таблица 4

Формула	Предложенные наименования	Предложенное химическое название исходя из английского эстрана
$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	**Фолликулостерон** — Follikulosteron (Р) **α-фолликулярный гормон** α-Follikelhormon (Б) **α-Фолликулин** — α-Folliculin (Ж) **Тилин** — Theelin (Д) **Эстрин** — Keto-hydroxyoestrin (М) **Эстрон** — Oestron (Англ.) **Менформон** — Menformon (Л)	3—Гидрокси, 17—Кето — 1, 3. 5—эстратриен
$C_{18}H_{21}(OH)_3$	**Фолликулостерон-гидрат** — Follikulosteron-hydrat (Р) **Гидрат фолликул. гормона** — Follikelhormon hydrat (Б) **α-фолликулин-гидрат** — α-Hydrofolliculin (Ж) **Тилол** — Theelol (Д) **Тригидроксиэстрин** — Trihydroxyoestrin (М) **Эмменин** — Emmenin (К) **Эстриоль** — Oestriol (Англ.)	3.16.17. Тригидрокси—1.3.5. эстратриен
$C_{18}H_{22}(OH)_3$	**Дигидро-фолликулостерон**—Dihydrofollikulosteron (Р) **Дигидро-фолликул. гормон**—Dihydrofollikelhormon (Б) **Дигидрофолликулин** — Dihydrofolliculin (Ж) **Дигидро-оксиэстрин** — Dihydro-oxyoestrin (М)	3.17 Дигидрокси—1.3.5 эстратриен
$C_{18}H_{23}(OH)$	**Дезоксо-фолликулостерон** — Desoxofollikulosteron (Р) **Дезоксо-фолликулярн. гормон** — Desoxo-follikelhormon (Б) **Дезоксотилин** — Desoxotheelin (Д)	3. Гидрокси—1.3.5 эстратриен
$C_{18}H_{29}(OH)$	**Гексагидро-дезоксо-фолликулостерон** — Hexahydro-desoxofollikulosteron (Р) **Гексагидро-дезоксо-фолликулярный гормон** (Б)	3.Гидроксиэстран
$C_{18}H_{28}(OH)_2$	**Гексагидро-дигидрокси-фолликулостерон** — Hexahydro-dihydroxy-follikulosteron (Р) **Гексагидро-дигидроксифолликулярный гормон** (Б) **Гексагидро-дигидроксиэстрин** (М)	3.17 — Тригидроксиэстран

Таблица 4 (продолжение)

Формула	Предложенные наименования	Предложенное химическое название, исходя из английского эстрана
$C_{18}H_{27}(OH)_3$	**Гексагидро-фолликулостеронгидрат** Hexahydro-Follikulosteronhydrat (Р) **Гексагидро-гидрат-фолликулярного гормона** (Б)	3.16.17. Тригидрокси-эстран
$C_{18}H_{18}O_2$	**Эквиленин** Жирара (Equilenin)	3. — гидрокси— 17. Кето-1.3.5. 6. 8.— эстрапентаэн (?)
$C_{18}H_{32}$	**Эстран** — Oestran — родоначальный углеводород англ. школы	

ПРИМЕЧАНИЕ: в скобках у каждого названия показана начальная буква фамилии автора: (Англ)—английская школа Адама, Доддса и др.; (Б)—Бутенандт; (Д)—Дуази; (Ж)—Жирар; (К)—Коллип; (Л) — Лакер; (М) — Марриан; (Р) — Ремезов.

ного гормона и его дериватов. Пользуясь этой таблицей, исследователь может без труда ориентироваться в оригинальных работах различных авторов, придерживающихся, естественно, номенклатуры, предложенной их соотечественниками.

Заслуга английской школы, на основании изложенного, лежит не столько в введении новой химической номенклатуры и нового стерина эстрана, самостоятельное существование которого требует еще дальнейших окончательных доказательств, сколько в том, что ею было на этом примере чрезвычайно наглядно показана генетическая химическая связь между гормоном, вызывающим течку, его дериватами, животными и растительными стеринами. Одновременно это приводит к установлению не менее удивительного факта существования тесного соотношения также между фолликулярным гормоном и веществами, вызывающими рак.

Таким образом, мы видим, что лежащее в основе, казалось прежде, физиологически столь далеко отстоящих веществ, как стерины (холестерин), холаны (желчные кислоты), витамины (кальциферолъ), карциногенные углеводороды (производные антрацена, циклопентенофенантрены) и половые гормоны (фолликулостерон), общее кольчатое ядро фенантрена объединяет все эти вещества не только в химическом отношении, но и в физиологическом, позволяя установить общий, до того

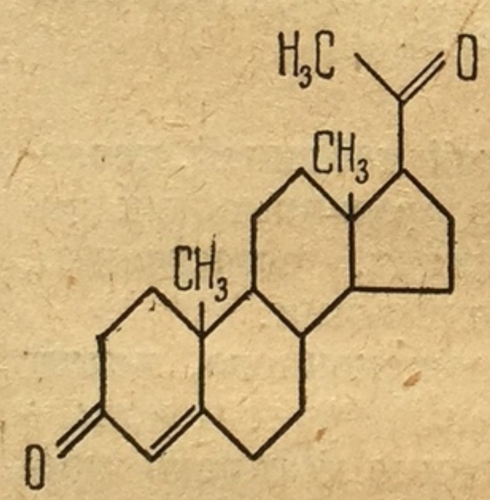
специфический только для половых гормонов, биологический феномен течки у животных. Поэтому изучение химии этих соединений, не говоря о проблеме их биохимии, настолько сейчас многообещающе, насколько несколько лет тому назад оно казалось совершенно бесплодным.

4. „Лутеостерон“— гормон желтого тела

Представляет собой тело тоже липоидной природы, свободное от азота, серы и фосфора, не дающее реакций холестерина, переносящее слабый гидролиз кислотами, но теряющее свои специфические физиологические свойства при омылении щелочами. По элементарному составу: C=80,2, H=9,62, отвечает брутто-формуле:

$$C_{21}H_{30}O_2$$

В соответствии с своей структурной формулой, лутеостерон может быть охарактеризован как ненасыщенный тетрациклический дикетон, в основе кольчатой структуры которого лежит общий для сексуальных гормонов и стеринов востановленный фенантрен.



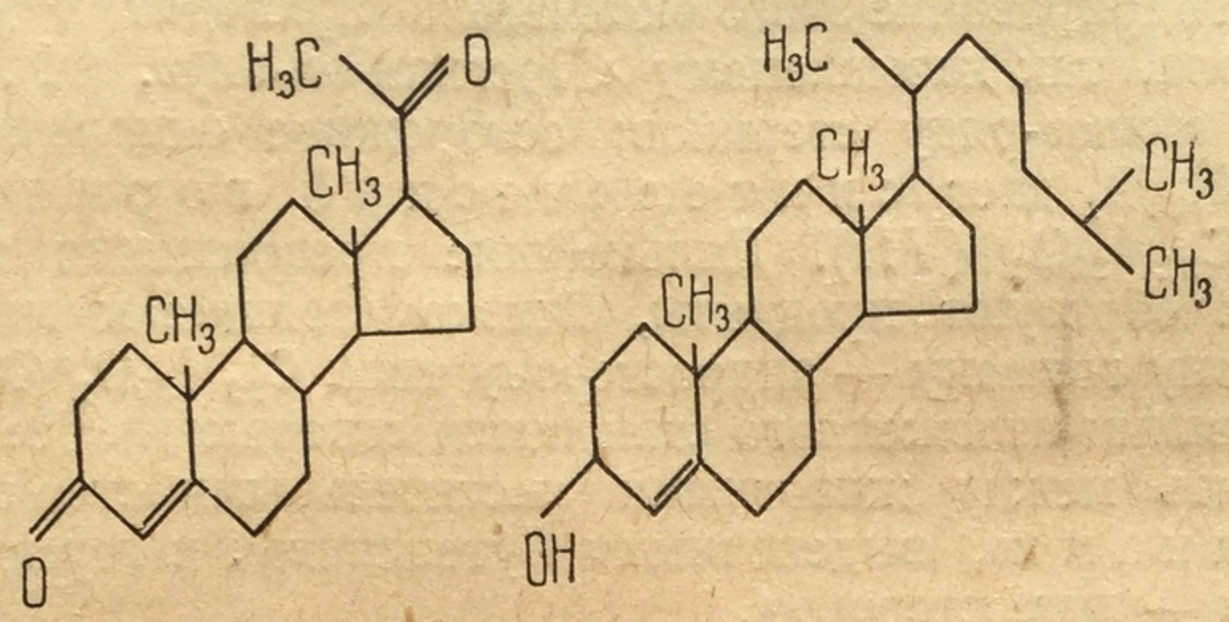
Лутеостерон

Справедливость приведенной конституциональной формулы доказывается рядом дериватов и реакций этого гормона. Обработка реактивами на кетоны (гидроксиламин, фенилгидразин) дала вполне идентифицированные продукты — фенил-гидр зоны и оксимы. При этом получается диоксим формулы $C_{21}H_{30}O_2N_2$, т. пл. 243°, что доказывает, что оба кислородных атома находятся в гормоне в виде двух карбонильных групп и, следовательно, гормон является дикетоном.

Исходя из брутто-формулы лутеостерона, нетрудно предположить по аналогии с фолликулярным гормоном наличие тетрациклической кольцевой системы. Однако, дикетон формулы $C_{21}H_{30}O_2$, казалось, должен был бы иметь насыщенный характер. Обработка бромом дала продукт присоединения—дибромид, а титрование перманганатом вызвало немедленное обесцвечивание последнего. Отсутствие OH - группы исключает оксикетон, а потому выделенный гормон является, очевидно, ненасыщенным дикетоном содержащим одну двойную связь. Сравнение спектров поглощения в ультрафиолете и величин максимума селективной абсорпции показало тождественность для лутеостерона и ненасыщен-

ного кетона, аллохолестерина — холестенона.

Из сравнения структурных формул (IV и V) обоих стеринов с очевидностью следует тождество их кольчатого скелета; разница заключается только в длине и характере боковой цепочки:



(IV.). (V.)

Двойная связь в лутеостероне находится следов. между C_4 и C_5. Рентгенографическое изучение кристаллического лутеостерона, произведенное Берналем (Bernal), Нейгаусом (Neuhaus) также говорит за стериновый скелет этого соединения. Опыты по каталитическому гидрированию инактивируют физиологическое действие лутеостерона и доказывают наличие одной двойной связи, присоединяющей I Mol H_2, причем две CO-группы переходят в алкогольные группы (Слотта — *Рушиг* и *Фельс* — Slotta — Ruschig — Fels).

В заключение необходимо остановиться на детальной химической характеристике лутеостерона, которая стала возможной после того как Бутенандту удался синтез этого соединения из животных и растительных стеринов (см. ниже). Полученный синтетический препарат гормона corpus luteum позволил окончательно установить его структуру и генезис, которые совпадают с изложенными выше данными.

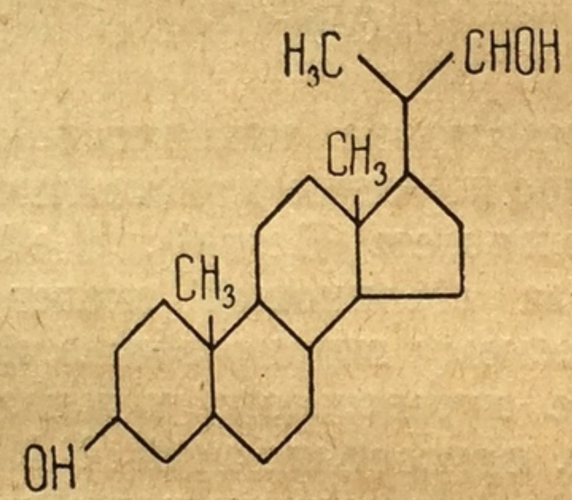
Возможность синтеза лутеостерона из стигмастерина, из холестенона и из спутника гормона в моче беременных, так называемого «стерина беременности» — прегнандиола, выясняет конституцию лутеостерона следующим образом:

Брутто-формула гормона $C_{21}H_{30}O_2$ близко стоит к брутто-формуле его постоянного спутника в моче беременных—прегнандиола $C_{21}\ {}_{36}O_2$, структурная формула которого как тетрациклического стерина (VI) была установлена точно Бутенандтом. Поэтому легко было предположить, что гормон Corpus luteum — дикетон $C_{21}H_{30}O_2$ является ненасыщенным дериватом прегнандиола, формула которого (VII) могла быть выведена по аналогии с ненасыщенными

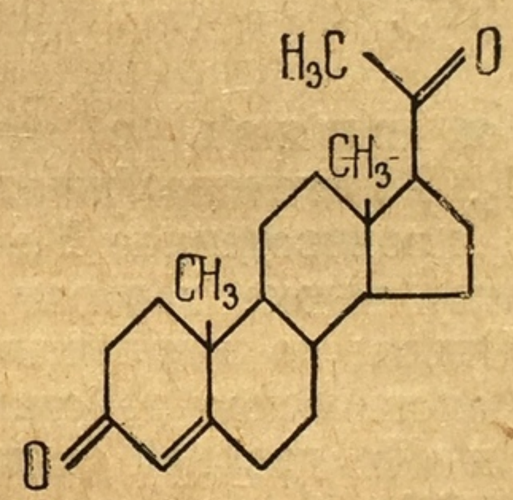
стеринами. Попытка выделить из стеринов вещества, конституция которых отвечала бы формуле VII, привела к синтезу гормона corpus luteum. Оказалось, что при замене у стигмастерина (VIII), 8 углеродных атомов в боковой цепи оксогруппой можно притти к ненасыщенному оксикетону $C_{21}H_{34}O_2$ (формула IX), стоящему уже близко к сексуальным гормонам; гидрирование этого оксикетона приводит к деривату прегнандиола, так называемому «Прегнан-ол-ону». (X), относящемуся к «алло»-ряду стеринов; осторожное окисление оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$ дает синтетический гормон, дикетон $C_{21}H_{30}O_2$ (VII). Дальнейшие превращения того же оксикетона образуют продукты, близко стоящие к мужскому сексуальному гормону — андростерону типа $C_{19}H_{30}O_2$ (XI).

На основании изложенного становится совершенно бесспорной тесная связь между животными растительными стеринами и «прегнанами», выделенными Бутенандтом и гормоном беременности — лутеостероном.

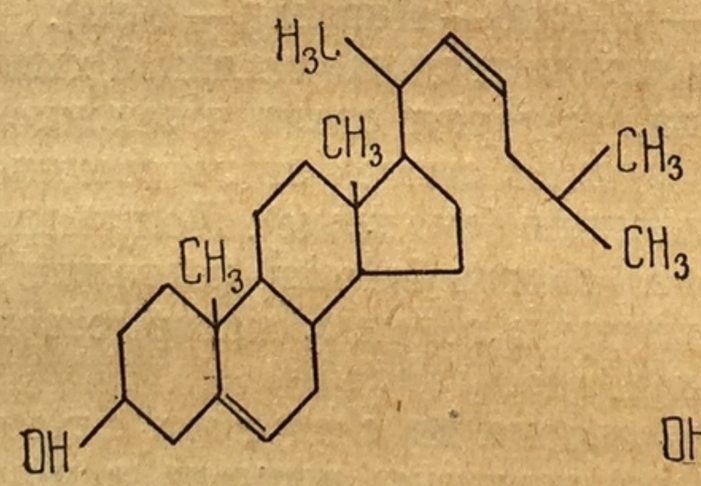
(VI)



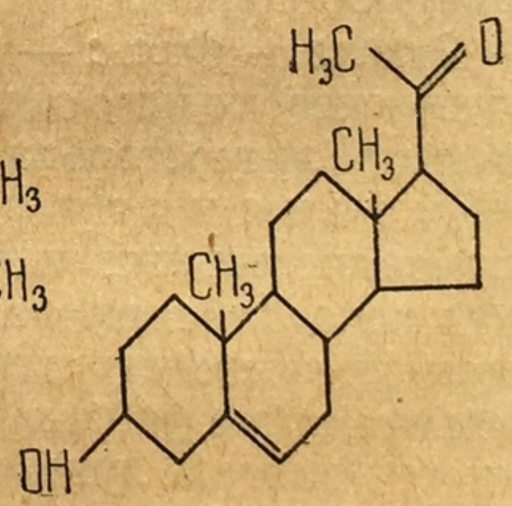
(VII)



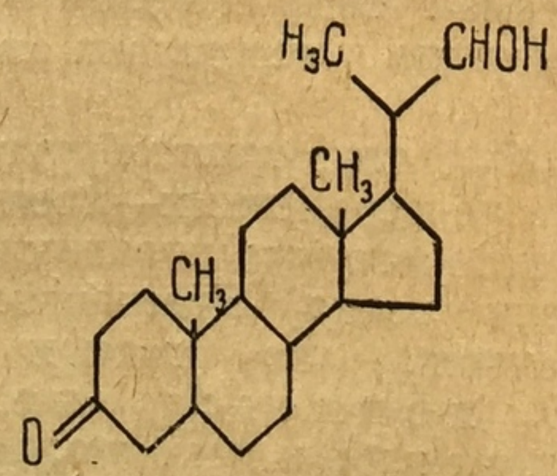
(VIII)



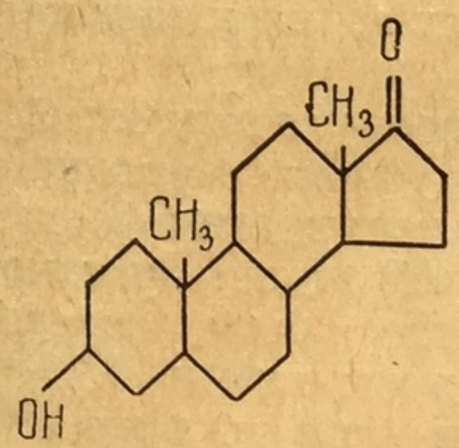
(IX)



(X)



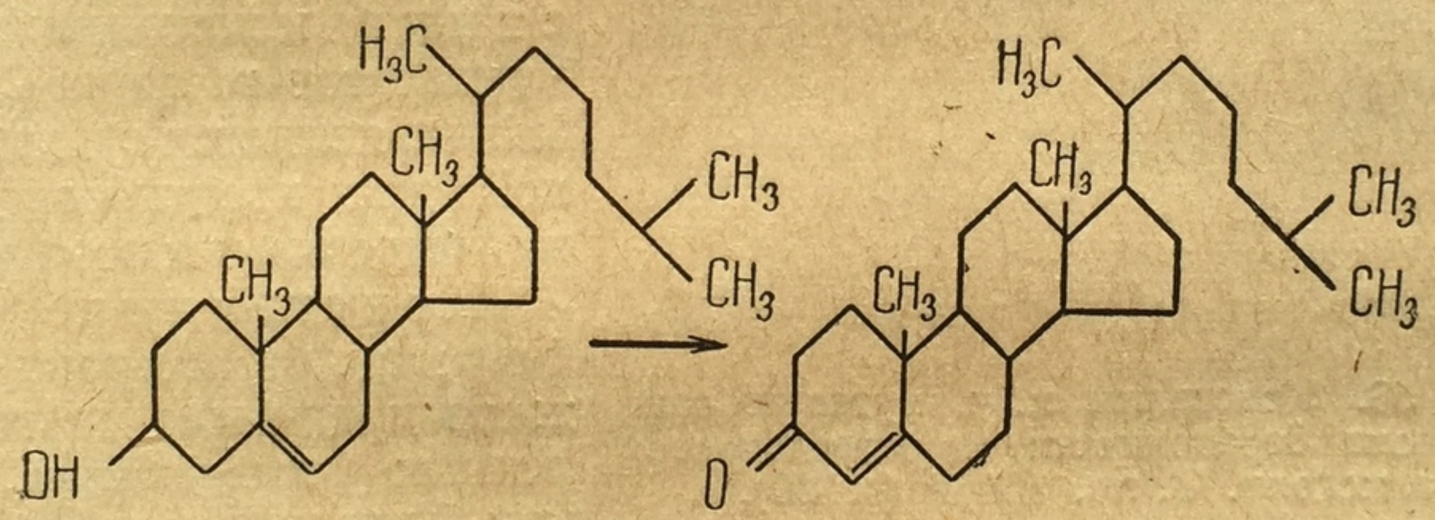
(XI)



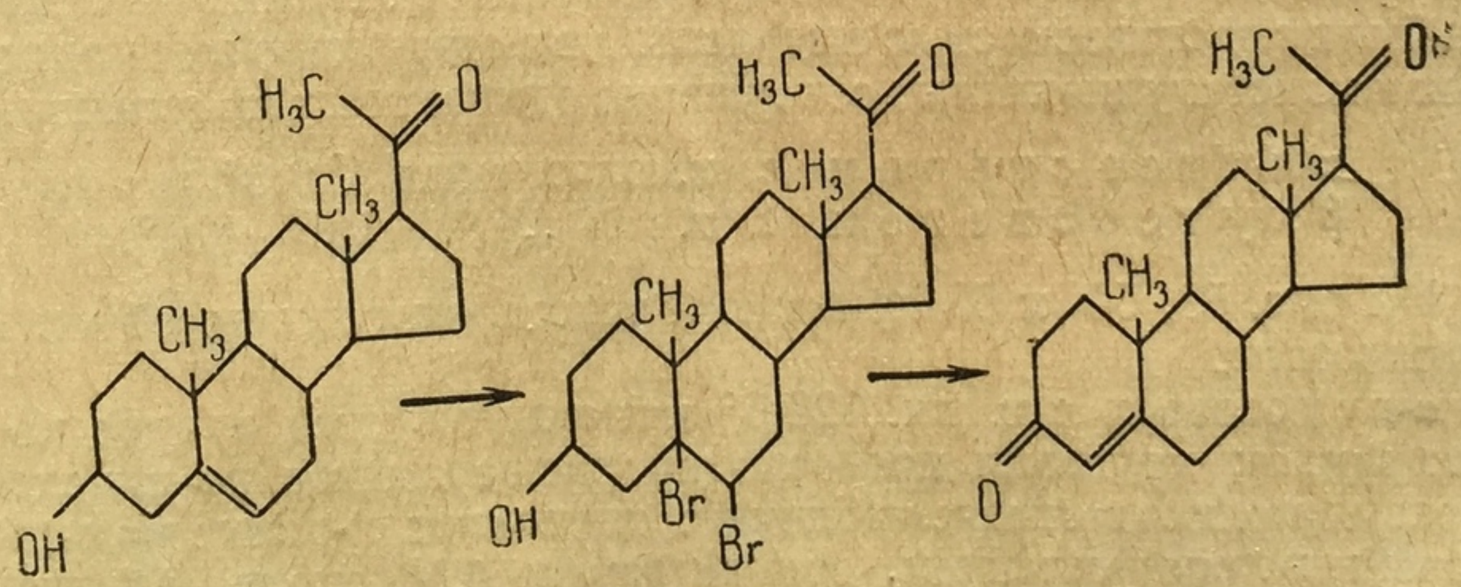
Из приведенного материала вытекает, что гормон Corpus luteum является производным стерина беременности — прегнандиола, и поэтому Бутенандтом было предложено для него химическое название Δ^4 —П р е г н е н-д и-о н, а также установлена схема химического генезиса из «п р е г н а н а», подобно английской схеме генезиса фолликулярного гормона из «эстрана». На ней я остановлюсь подробнее ниже.

Вопрос о положении двойной связи в молекуле лутеостерона решается, таким образом, просто: возможность получения гормона из прегнандиола доказывает в полном соответствии с спектрами поглощения в ультрафиолете положение двойной связи относительно кето-группы, между C_4 и C_5 или C_1—C_2, в зависимости от того, присоединился ли бром к C_2 или C_4.

Окисление ненасыщенного оксикетона (IX) приводит к дикетону, у которого двойная связь должна лежать в месте соединения колец I и II, т. е. у C_5. Следовательно, двойная связь в лутеостероне может лежать только между C_4 и C_5. Полная аналогия положения двойной связи с х о л е с т е н о н о м доказывается еще тем обстоятельством, что, при дебромировании дибромдикетона образующегося при окислении бромида оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$ происходит такое же перемещение двойной связи из β-γ-положения в α-β-положение, как это имеет место и при переходе холестерина (XII) в холестенон (XIII).



(XII) (XIII)



(IX) (VII)

Характерной для лутеостерона является необычайная специфичность зависимости его химической структуры и проявляемого им физиологического эффекта. Как показали опыты по выделению его дериватов, все из них до сих пор известные оказались физиологически недеятельными. Проявление биологического эффекта гормона зависит не только от его ненасыщенного характера, но и от специфического α-β-положения двойной связи, а также от неприкосновенности обеих карбонильных групп (замещение их приводит к потере действия гормона). Поэтому понятна полная физиологическая инертность дигидродеривата гормона, в то время как для фолликулярного гормона наблюдалась обратная картина — дигидрофолликулостерон в 6 раз сильнее, чем чистый гормон.

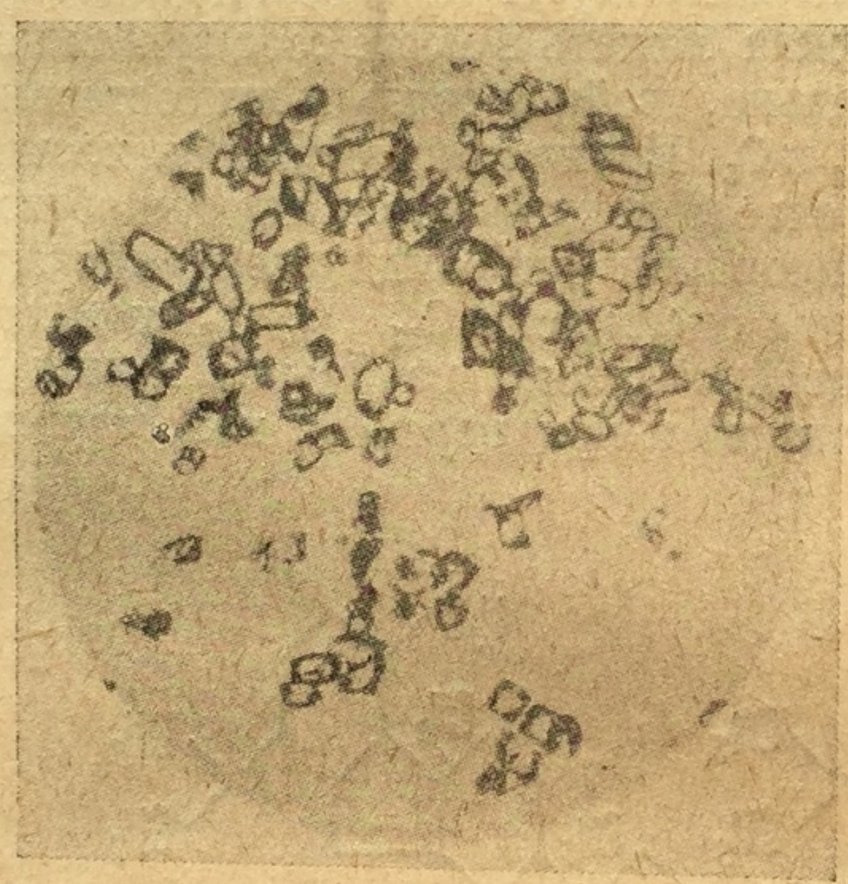


Рис. 58. Кристаллы х. ч. лутеостерона (гормона беременности) из разведенного алкоголя. Т. пл. 128,5° (×100).

Физиологическая активность чистого кристаллического гормона составляет в пробе Клауберг — Гольвега (кролики)

1 грамм=1350 КЕ

Физико-химическая характеристика кристаллических препаратов гормона Corpus luteum является существенной для идентифицирования выделяемых продуктов.

Кристаллическая форма лутеостерона служила предметом многочисленных исследований, так как были установлены различные кристаллические модификации чистого гормона. Из экстрактов желтого тела яичников были с достоверностью выделены два одинаково активных, чистых и конституционально совершенно одинаковых кристаллизата:

α-лутеостерон с т. плавления 128,5° и
β-лутеостерон с т. ,, 120—122°.

На рис. 58, 59 и 60 приведены микрофотограммы обоих кристаллизатов.

α-лутеостерон с т. пл. 128,5° кристаллизуется в виде коротких призм; кристалл превосходно расщепляется по плоскости, образуя прямоугольные таблички: оптически 2-осные кристаллы с двойным преломлением, осевым углом (2V) около 40° и ясно выраженной ромбической симметрией.

При большем увеличении (рис. 59) ромбическая симметрия вполне видна: (hko) (okl) (loo), плоскости оптических осей параллельны (010). Слабая дисперсия ($\rho > V$).

Рис. 59. Кристаллы х. ч. лутеостерона с т. пл. 128,5° при большом увеличении (×300).

β-лутеостерон с т. пл. 120—122° кристаллизуется в виде тонких игл (рис. 60), имеющих линейную форму, сильно преломляющих и показывающих также ромбическую симметрию (не исключена и моноклинная): (hol) (ol) (hko) (olo). При большом увеличении (рис. 61) видна 2-х осность кристаллов, осевой угол (2HD) около 80°.

Плоскости оптических осей параллельны (100), дисперсия слабая ($\rho > V$).

Обе модификации позволяют перевести себя одна в другую: при осаждении половинным объемом воды концентрированного алкогольного раствора лутеостерона с т. пл. 128,5° выпадает осадок, который после фильтрации растворяется в эфире. Пропусканием воздуха можно удалить последний в результате чего выпадают тонкие игольчатые кристаллы лутеостерона с т. пл. 120—122°.

Характерно, что и синтетически получаемый гормон дает те же две модификации с т. пл. 128—129 и 121°.

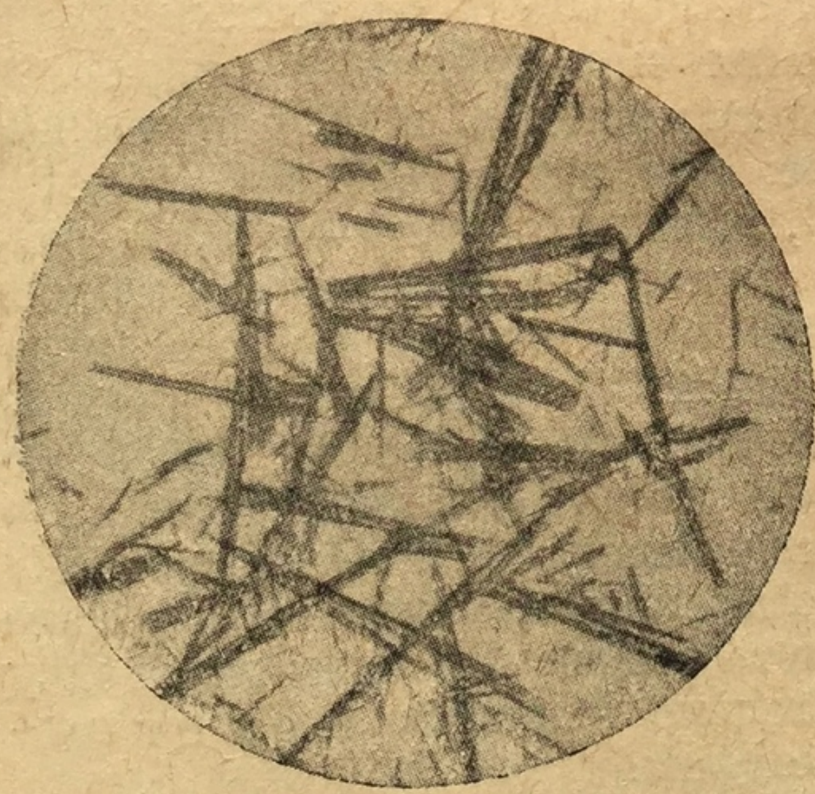


Рис. 60. Кристаллы полиморфной модификации того же х. ч. лутеостерона из разведенного алкоголя. Т. пл. 120° (×30).

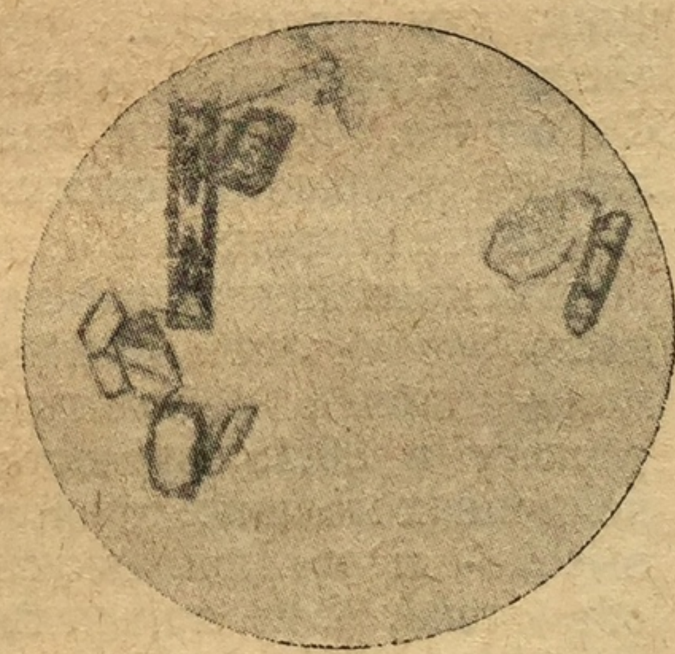


Рис. 61. Кристаллы полиморфной модификации того же лутеостерона из разведенного алкоголя (таблички) с т. пл. 120° (×175) по Слотта (лутеостерон Д).

Слотта и его сотрудники выдвинули предположение, что различные по плавкости кристаллические модификации лутеостерона представляют собой различные химические индивидуумы с различным физиологическим действием. Они различали лутеостероны A, B, C, D, а также их смеси. Дальнейшие исследования Бутенандта, а также микрокристаллические определения Нейгауса доказали полную несостоятельность такого мнения. Речь идет только об одном гормоне желтого тела—лутеостероне, его же α-и β-модификации суть полиморфные модификации одного и того же вещества. Что это действительно так, ясно из следующих рассуждений:

Обе формы переводимы друг в друга путем кристаллизации. Высокоплавкие формы α-лутеостерона (128,5°) образуются преимущественно, если горячий алкогольный раствор гормона осадить до начинающегося помутнения горячей же водой и дать очень медленно остывать. Наоборот, низкоплавкие β-формы (иглы) образуются, если холодный алкогольный раствор гормона осаждать холодной водой и оставить стоять для медленной кристаллизации. Тот же результат дает кристаллизация из чистого безводного петролейного эфира (т. кипения 70—80°). Прививка к кристаллизующейся массе гормона кристалла той или иной другой модификации вполне обусловливает выход кристаллической формы, идентичной привитой. Эмпирический, аналитический состав обеих модификаций совершенно. идентичен — $C_{21}H_{30}O_2$, причем низкоплавкую форму (т. пл. 121°) лучше получать для целей установления элементарного состава кристаллизацией из безводного петролейного эфира. Кристаллизаты этой модификации, получаемые из содержащих воду растворителей, дают иногда несколько более высокие величины для углерода. Определения молекулярной рефракции обеих модификаций, а также лутеостеронов C и D, полученных Слотта, показали следующее: для лутеостерона C молекулярная рефракция составила 90,15, а по расчету — 89,87; расхождение ничтожно и объясняется тем, что вследствие наличия конъюгированных двойных связей в кольчатом скелете имеет место экзальтация примерно около $\pm 0{,}7$. Для лутеостерона D молекулярная рефракция составила 93,43 против 89,87 по расчету и 90,15 лутеостерона C. Такая огромная разница в величинах молекулярной рефракции между «C» и «D», т. е. между высоко- и низкоплавкими модификациями, может быть только объяснена, если признать, что лутеостерон D содержит на одну молекулу H_2O больше, следовательно является моногидратом, или обе формы полиморфны.

Позднейшая проверка этого вопроса Бутенандтом показала, что моногидрат может быть исключен наверняка, а при пользовании препаратами лутеостерона, выкристаллизованными из чистого, безводного петролейного эфира, величины мо-

лекулярной рефракции достигают значений, которые прямо говорят о полиморфизме обеих модификаций. На табл. 5, взятой из работы Нейгауса, дано сопоставление величин, полученных для обоих препаратов лутеостерона.

Таблица 5

Свойства	α-лутеостерон или модификация «С» точка пл. 128—129°	β-лутеостерон или модификация „D" точка пл. 120—122°
Брутто-формула	$C_{21}H_{30}O_2$	$C_{21}H_{30}O_2$
Точка плавления	128—129°	120—122°
S (метод колебаний)	1,163±0,003	1,160±0,005
α_D	1,542±0 003	1,530±0,005
β_D	1,554±0,003	1,581±0.003
γ_D	1,652±0,01	1,713±0,01
$n_m = \sqrt[3]{\alpha.\beta.\gamma}$	1.581	1.606
Мол. рефракция (экспер.)	90,15±0,8	93,43±0,1
Мол. рефракция (теорет.)	89.87	89,87

Наконец, идентичность спектров поглощения в ультрафиолете обоих препаратов, величин их оптического вращения, идентичность дериватов и совершенно одинаковое в количественном и качественном отношении действие на животных — все это также приводит к выводу, что для кристаллического гормона Corpus luteum нужно признать наличие двух полиморфных модификаций:

α-лутеостерона (лутеостерон С—Слотта), кристаллизующегося в виде призмочек (рис. 58,59) с т. плавления 128°,

β-лутеостерона (лутеостерон D — Слотта). кристаллизующегося в виде игл и табличек (рис. 60,61) с т. плавления 121°.

Обе модификации растворяются с одинаковой легкостью в органических средах, причем для перекристаллизации, кроме указанных выше растворителей, хорошие результаты получаются по Гартманну—Веттштейну (Hartmann—Wettstein) при применении уксусно-этилового эфира в смеси с петролейным эфиром, метилциклогексаном, диоксаном.

Оптические свойства обеих модификаций идентичны:

для α-лутеостерона: $[\alpha]_D^{20°} = +191{,}5°$;

для β-лутеостерона: $[\alpha]_D^{20°} = +191{,}6°$.

Промеры оптического вращения были в обоих случаях — в растворе абсолютного алкоголя. Поглощение в ультрафиолете дает характерную кривую абсорпции, максимум которой

приходится при 240—245 $m\mu$ (рис. 62), для обеих модификаций кристаллического гормона.

Химические реакции и свойства гормона желтого тела следуют из его конституции, причем особо нужно отметить его чрезвычайную чувствительность к различным окислителям и перекисям. Специфических химических реакций не известно, а поэтому для его идентифицирования, так же как

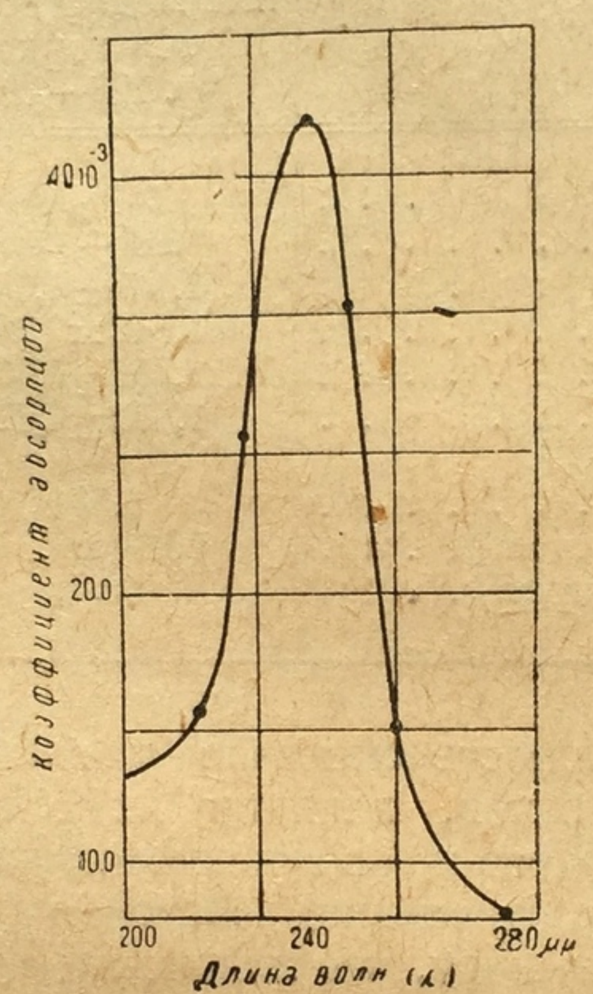


Рис. 62. Кривая абсорпции х. ч. лутеостерона в ультрафиолете.

и в случае фолликулярного гормона, необходимо руководствоваться биологическими пробами на животных.

Из важнейших дериватов гормона нужно упомянуть следующие. *Диоксим лутеостерона* по эмпирическому составу соответствует брутто-формуле $C_{21}H_{32}O_2N_2$; получается при обработке кристаллического гормона в течение $3^1/_2$ часов алкогольным раствором ацетата гидроксиламина при кипячении. Диоксим кристаллизуется из водного алкоголя в виде игл с т. пл. 240—249°. Из обеих модификаций гормона получается тот же диоксим.

Семикарбазон лутеостерона получается при обработке гормона семикарбазидом обычными способами, однако выделить химически однородный, кристаллизующийся продукт до сих пор еще не удалось. Он не растворим в большинстве органических растворителей.

В заключение необходимо указать на препараты Корнера, так называемый Progestin, активный в дозах от 2 мг, на Relaxin и Corporin, полученные Фельзом, Гайсоу и

Мейером, которые не являются химически однородными кристаллизатами гормона и содержат ряд примесей. Останавливаться на них поэтому не представляет интереса.

5. Производные лутеостерона

В отличие от фолликулярного гормона, производных гормона Corpus luteum выделено немного, причем характерно полное отсутствие физиологически активных дериватов. Как указывалось, причина, очевидно, в исключительно высокой специфичности гормона. Из выделенных производных заслуживают внимания: *Дигидро-лутеостерон* [Δ^4-прегнен-ол (20)-он (3)] по номенклатуре Бутенандта; получается легче не из гормона, а из его спутника — прегнандиола. и оксикетонов. При обработке бромом в уксусной кислоте прегнан-ол(20)-она (3) получается бромид оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$, из которого пиридин отщепляет бром и приводит к дигидролутеостерону. По элементарному составу он соответствует формуле $C_{21}H_{32}O_2$.

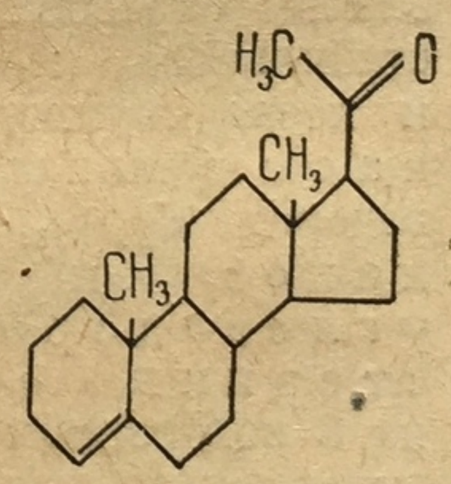
Кристаллизуется в длинных иглах и призмах, показывающих т. пл. 159°. Оптическое вращение в растворе абсолютного алкоголя

$$\left[\alpha\right]_D^{20^\circ} = +89{,}7$$

При обработке ангидридом уксусной кислоты дает моноацетат $C_{21}H_{31}O\,(CH_3COO)$, имеющий т. пл. 138,5°. Физиологическая проверка обоих продуктов в дозах до 1 мг не дала никакого эффекта.

Дезоксо-лутеостерон получается путем энергичного восстановления цинковой пылью в уксуснокислом растворе дибром-дикетона (гормона). При этом карбонильная группа у C_3 начисто редуцируется и образуется дезоксо-дериват брутто-формулы $C_{21}H_{32}O$, которому соответствует формула (XIV).

Этот дериват легко выкристаллизовывается в виде иголок с т. пл. 105° и в пробах Гольвега и Клауберга оказался точно так же совершенно недеятельным. Таким образом, для проявления специфического биологического эффекта гормона Corpus luteum необходима определенная внутренняя констелляция карбонильных групп и двойной связи. Нарушение хотя бы одного из этих элементов приводит к выпадению физиологического эффекта.



(XIV)

6. Физиологически-недеятельные спутники гормона corpus luteum в животном организме

Важнейшей находкой, позволившей быстро подойти к решению вопросов синтеза лутеостерона, было открытие Бутенандтом в моче беременных наряду с фолликулярным гормоном,

его дериватами и гормоном желтого тела еще целого ряда специфических стеринов, свойственных только моче беременных, физиологически недеятельных и постоянно сопровождающих гормон желтого тела. Этим стеринам Бутенандт дал общее имя «прегнаны» (Pregnane), или «стерины беременности», выяснение конституциональной формулы которых привело к установлению бесспорной связи между ними, сексуальными гормонами, холестерином и желчными кислотами. Прегнаны являются, повидимому, ни чем иным, как промежуточными соединениями при образовании гормона Corpus luteum в организме но могут быть также рассмотрены как результат гидрирования гормона. Разбор существующих при этом соотношений дает необычайно сложную картину вследствие имеющейся здесь стереоизомерии и образования множества дериватов. Знание и полный охват этой картины являются, однако, необходимой предпосылкой как для того, чтобы подойти ближе к выяснению механизма образования гормонов пола в организме, так и для понимания вопросов взаимной связи всех установленных производных гормона желтого тела.

Прегнан-диол (Pregnan-diol) — постоянный спутник гормона желтого тела, по данным Марриана находится в моче только женщин и притом только в течение беременности. Содержание его примерно 0,2 г кристаллизата в 100 л мочи. Элементарный состав — C=78,43; H=11,11—позволяет установить брутто-формулу

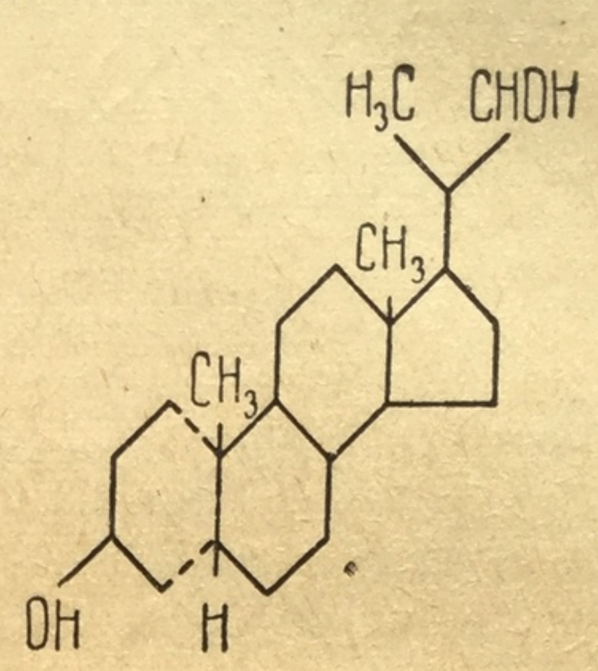
$$C_{21}H_{36}O_2,$$

где оба кислородных атома связаны в виде OH-групп, доказываемых образованием диацетата — прегнандиола, стабильного к гидрированию, не реагирующему с бромом и позволяющему на этом основании полагать прегнандиол насыщенным соединением. Ему тогда соответствует углеводород $C_{21}H_{36}$, который Бутенандт назвал «прегнаном» и который считает родоначальным углеводородом, из которого образуются стерины беременности. Этот углеводород имеет на 8 водородных атомов меньше, чем насыщенный предельный углеводород, откуда следует, что в основе структурной формулы прегнандиола должен лежать кольчатый скелет. Осторожное окисление прегнандиола привело к насыщенному дикетону прегнан-ди-ону формулы $C_{21}H_{32}O_2$, образующему характерный диоксим, что указывает, следовательно, на вторичный характер обеих OH-групп в прегнандиоле. Окисление прегнан-ди-она привело к соответствующей кето-дикарбоновой кислоте $C_{21}H_{32}O_5$.

На основании такого окисления прегнан-ди-она нужно, оче-

видно, приписать прегнандиолу кольчатую структуру из 4 гидрированных колец, аналогичную стеринам в результате чего он получает структурную формулу (XV).

Прегнандиол представляет собой нейтральный продукт окисления холестеридов в организме и одновременно один из промежуточных продуктов синтеза в последнем гормона желтого тела.



(XV)

Свойства: весьма трудно растворим во всех органических растворителях, несколько растворим в горячем алкоголе и ацетоне и может быть из них выкристаллизован. Образует бесцветные таблички (рис. 63) с постоянной точкой плавления 234—235°, не осаждается дигитонином, со смесью уксусного ангидрида и концентрированной H_2SO_4 дает мало характерную краснобурую окраску.

Важными являются его производные для целей препаративной химии гормонов.

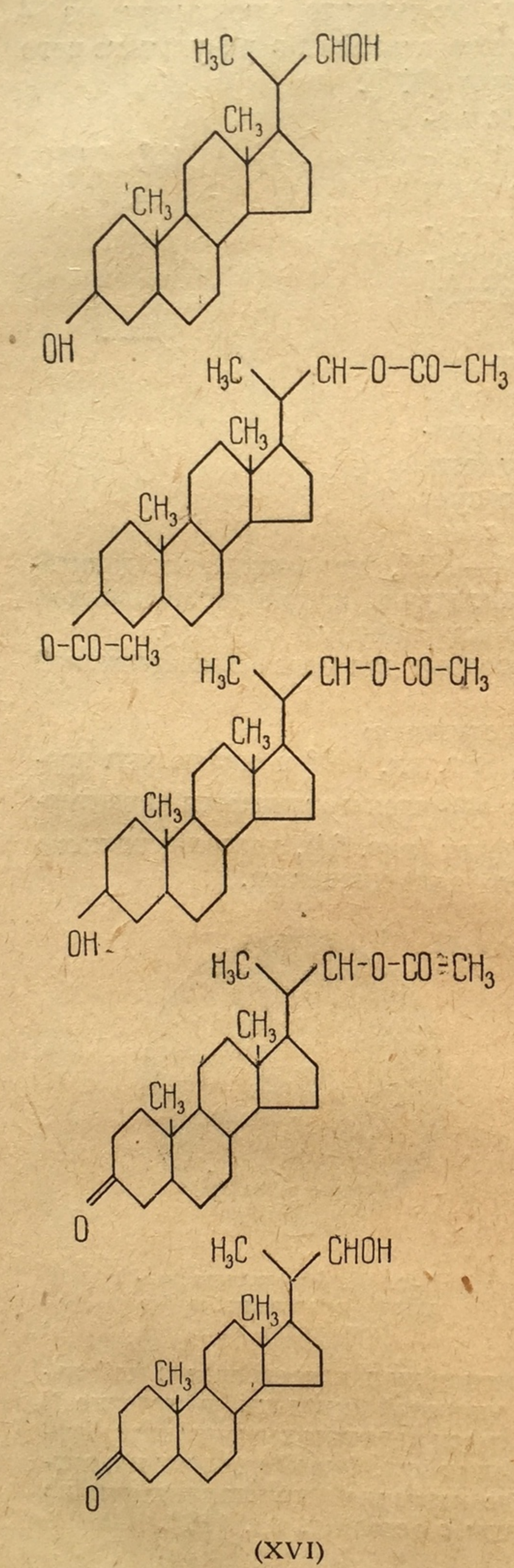
Из них я укажу вкратце на следующие:

Диацетат $C_{21}H_{34}O_2(COCH_3)_2$ с т. пл. 180° и оптическим вращением $[\alpha]_D^{20°} = +35{,}3°$ весьма стабилен и отличается характерными кристаллами в виде призмочек (рис. 64), позволяющих его идентифицировать от изомерного алло-диацетата.

Рис. 63. Кристаллы прегнандиола (из этанола) ×20.

Рис. 64. Кристаллы диацетата прегнандиола (из метанола) ×20.

Для получения диацетата прегнандиол нагревается с небольшим количеством ангидрида уксусной кислоты в течение 2 часов до кипения; по остывании смеси медленно выкристаллизовывается диацетат в виде тонких белых игл. Сырой продукт плавится при 178—179° и лишь после повторной кристаллизации из метанола дает прозрачные призмы с острой т. пл. 180°.



(XVI)

Дикетон (прегнан-ди-он) $C_{21}H_{32}O_2$ получается при осторожном окислении прегнандиола на холоду хромовым ангидридом. Выходит в виде трудно кристаллизующегося масла, из которого однако можно выкристаллизовать препарат — иглы с. т. пл. 123°. В отличие от диола весьма легко растворим во всех органических растворителях. Показывает положительную иодоформенную реакцию и образует характерный диоксим $C_{21}H_{34}O_2N_2$ призмы с т. пл. 250°.

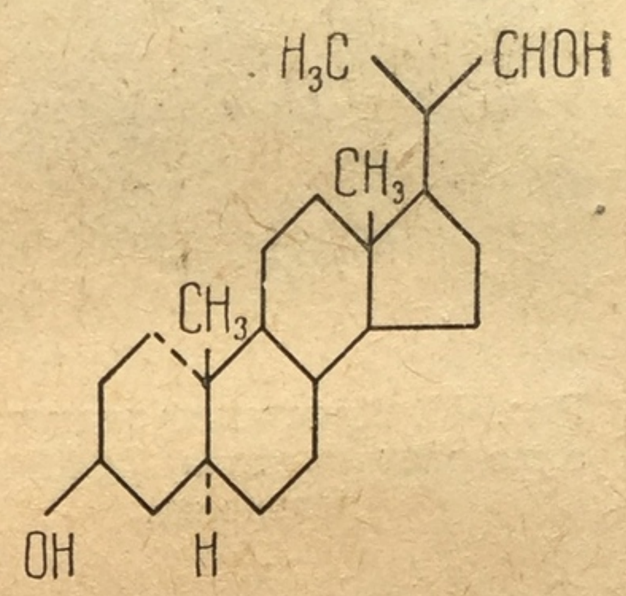
Кето - дикарбоновая кислота $C_{21}H_{32}O_5$ в виде призм, трудно растворимых в ацетоне, эфире с т. пл. 270°.

Чрезвычайно важной реакцией является превращение прегнандиола (XV) в насыщенный оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$ или прегнанолон(3) (XVI) который точно так же может быть самостоятельно выделен из мочи беременных. Перевод прегнандиола в оксикетоны достигается различными путями— частичным окислением, частичным восстановлением прегнан-ди-она, частичным омылением диацетата прегнандиола и частичной эстерификацией прегнандиола. Повидимому, лучшим способом получения оксикетонов является путь частичного омыления диацетата прегнандиола, который дает хорошие выходы. Приводимая схема, позволяет резюмировать протекание реакций и одновременно судить о тех измене-

ниях, которые происходят в кольчатой системе стерина беременности.

Помимо прегнандиола в моче беременных находится его «алло»-изомер.

Аллопрегнандиол, открытый Гартманом и Лохером (Hartmann — Locher) в 1934 г. также в моче беременных, представляет собой изомер насыщенного алкоголя — прегнандиола той же брутто-формулы $C_{21}H_{36}O_2$, но показывающий cis-trans — изомерию в конституциональной формуле (XVII).



(XVII)

По аналогии с изомерией в ряду холестерина, алло-прегнандиол представляет trans-форму, в то время как прегнандиол является cis-изомером. Следовательно, прегнандиол нужно отнести к «копростериновому» ряду насыщенных стеринов, алло-прегнандиол — к дигидрохолестериновому ряду (тип аллохолана).

Алло-прегнандиол обычно находится в смеси с прегнандиолом в нейтральных фракциях мочи беременных и отделен может быть путем ацетилирования с последующей разгонкой обоих диацетильных производных. Он представляет собой хорошо растворимые в этаноле, метаноле, гексане и других органических веществах бесцветные крепкие иглы (рис. 65), собирающиеся в небольшие кучки и форма которых различна от формы кристаллов прегнандиола.

Рис. 65. Кристаллы алло-прегнандиола (из этанола) ×40.

Следует отметить, что алло-форма лучше растворима в органических растворителях, чем cis-изомер, то же относится и к кристаллизации. Алло-форма легче и быстрее выкристаллизовывается.

Точка плавления кристаллического алло-прегнандиола — 248,5°. Оптическое вращение (бензольные растворы)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = +16{,}4^\circ.$$

Из важнейших, выделенных дериватов заслуживают быть отмеченными следующие:

Диацетат алло-прегнандиола образуется путем энергичного ацетилирования алло-прегнандиола уксусным ангидридом при температуре около 200° в течение 2 часов. Для кристаллизации смесь должна быть охлаждена до — 15° и растворена в гексане, из которого выделяются в виде кустов или розеток иглы чистого диацетата с т. пл. 141—142°.

На рис. 66 показана кристаллическая форма алло-диацетата для отличия ее от кристаллов cis-изомера.

Оптические константы диацетата алло-прегнандиола

$$\left[\alpha\right]_D^{20^\circ} = +18{,}8^\circ \text{ (бензол)}$$

отличаются от диацетата прегнандиола, дающего

$$\left[\alpha\right]_D^{20^\circ} = +35{,}3^\circ$$

Брутто-формулы обоих ацетильных дериватов тождественны.

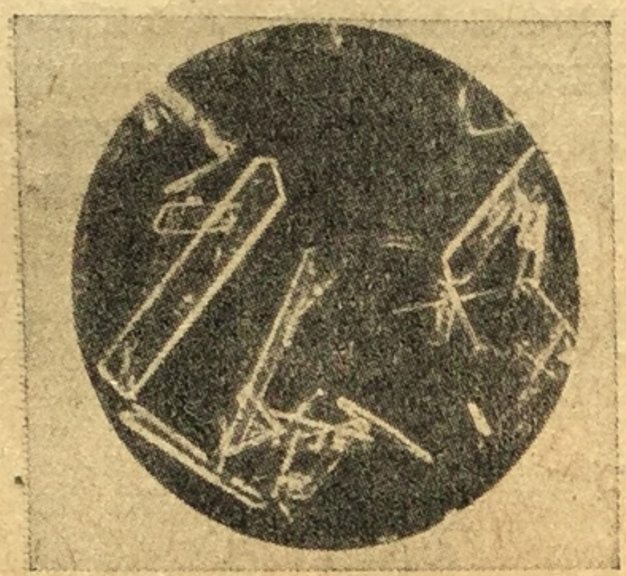
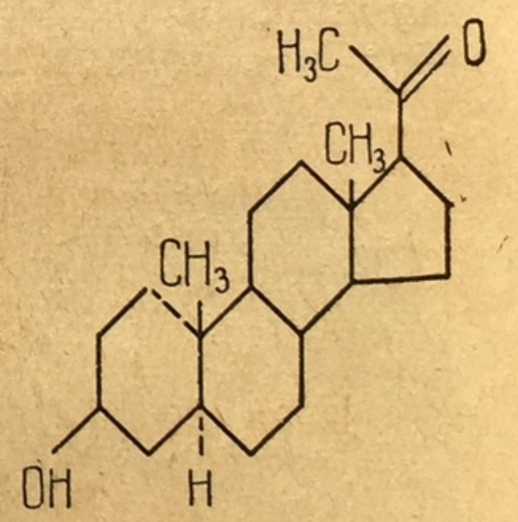


Рис. 66. Кристаллы диацетата алло-прегнандиола (×40) (из метанола).

Алло-прегнан-ди-он дикетон $C_{21}H_{32}O_2$ получается совершенно аналогично прегнандиону окислением хромовым ангидридом на холоду аллопрегнандиола. Прекрасно кристаллизуется в виде белых игл из гексана или этанола с т. плавления 204°.

Хотя прямого доказательства еще не получено, но повидимому аллопрегнандиолу соответствует оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$, который был получен Бутенандтом не из аллодиола, но путем окислительного расщепления стигмастерина, а также выделен из экстрактов желтого тела.



(XVIII)

В пользу взгляда, что этот оксикетон относится генетически к аллопрегнандиолу, говорит не только его trans-изомерная группировка, но также и тот факт, что исходя из него можно легко притти к алло-прегнан-ди-ону, как эта показывает схема на стр. 113.

Оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$ — точка плавления 194° — аллопрегнан-ол-(3)-он (20) представляет собой физиологически недеятельный, также постоянный спутник гормона Corpus luteum, находимый в моче беременных и изолируемый из экстрактов желтого тела. По своим свойствам он является насыщенным кето-спиртом (формула XVIII). Кристаллизуется в виде тонких пластинок с точкой плавления 194°, причем его кристаллическая форма является очень характерной, позволяя его отличать от прочих изомерных кетонов.

На рисунке 67 приведена микрофотограмма кристаллов этого оксикетона.

Из производных следует отметить о к с и м $C_{21}H_{35}O_2N$ — кристаллическое тело с т. пл. 224°, а также характерный м о н о а ц е т а т $C_{23}H_{36}O_3$, образующийся при ацетилировании оксикетона в течение 15 минут. Кристаллизуется в характерных больших плоских листках (рис. 68) и дает после повторных перекристаллизаций из алкоголя острую точку плавления при 144,5 °.

Очень важной реакцией оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$ оказалось осторожное окисление хромовым ангидридом. Эта реакция послужила толчком к ряду обобщений и позволила установить конституциональную формулу этого кетона. В результате такого окисления образуется д и к е т о н (а л л о-п р е г н а н-д и о н) $C_{21}H_{32}O_2$, (XVIII) уже разобранный выше, с т. пл. 202—204°, относящийся к trans-изомерам и идентичный дикетону — алло-прегнанди-ону, полученному при подобном окислении а л л о п р е г н а н д и о л а. Тогда с очевидностью следует, что о к с и к е т о н $C_{21}H_{34}O_2$ с т. пл. 194° относится к а л л о п р е г н а н д и о л у (XVII) и по всей вероятности образуется путем дегидрирования у последнего вторичной алкогольной группы. При такой интерпретации о к с и к е т о н $C_{21}H_{34}O_2$ с т. пл. 194° является следовательно а л л о п р е г н а н-о л(3)-о н о м (20).

Формулы XVII, XVIII и XIX (сверху вниз)

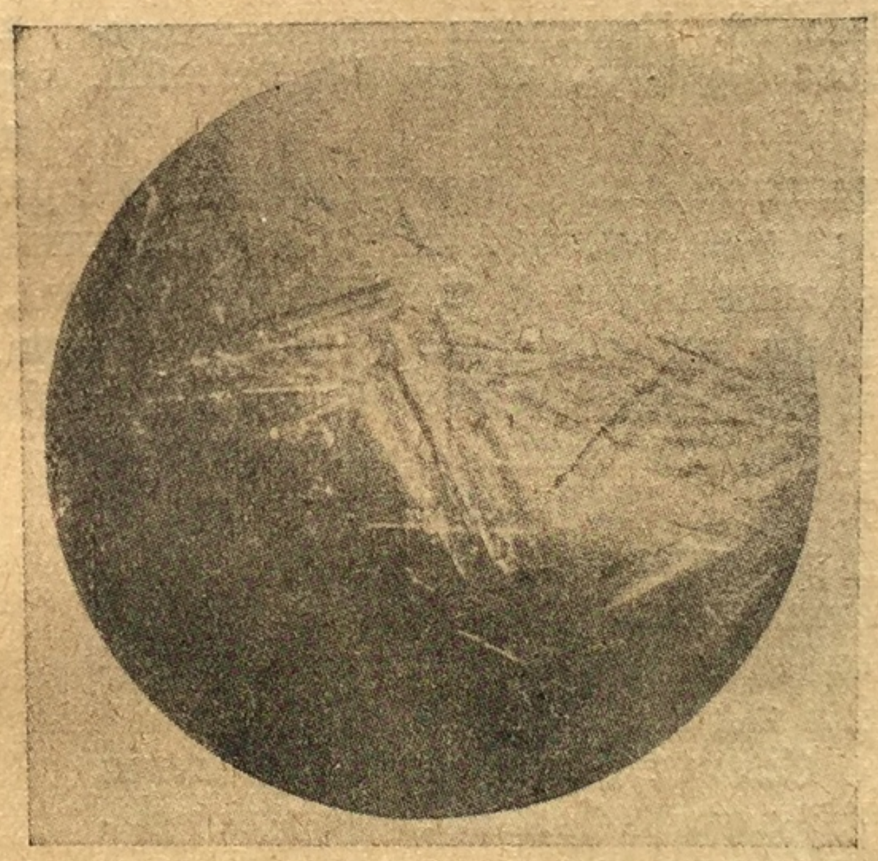


Рис. 67. Кристаллы оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$, т. пл. 194° ×30.

Окончательное доказательство справедливости приведенной структурной формулы (XIX) аллопрегнан-ол-она (20) дали Бутенандт и Мамоли (Butenandt—Mamoli), которые получили этот оксикетон синтетическим путем, исходя из стигмастерина. Схема этих реакций приводится ниже и позволяет без дальнейших пояснений проследить образование этого соединения.

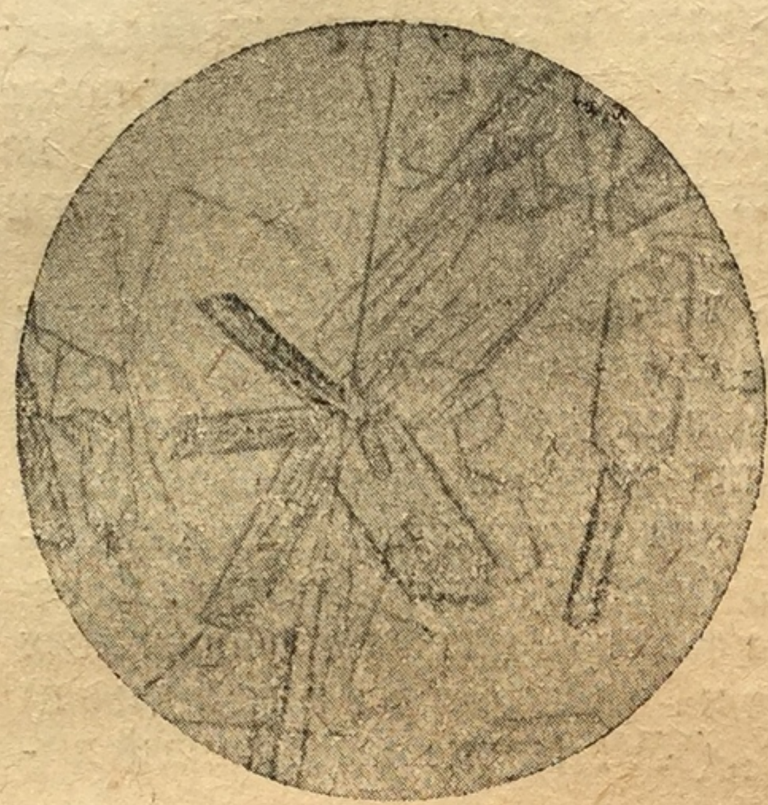


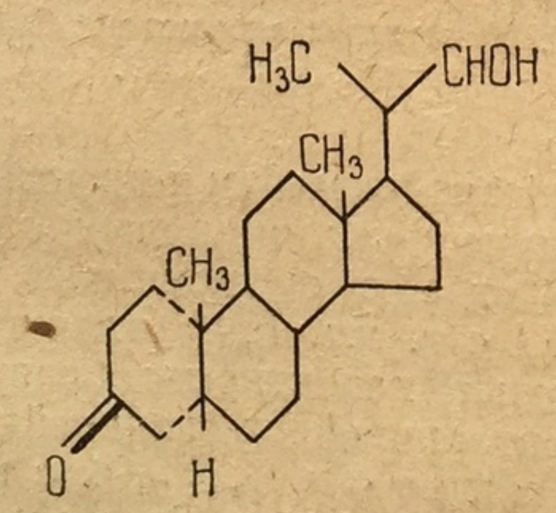
Рис. 68. Кристаллы ацетата-оксикетона $C_{21}H_{34}O_2$, т. пл. 144,5° ×100.

Полученный синтетическим путем аллопрегнан-ол-он (20) оказался идентичным оксикетону $C_{21}H_{34}O_2$, т. плавления 194°, полученному из экстрактов желтого тела.

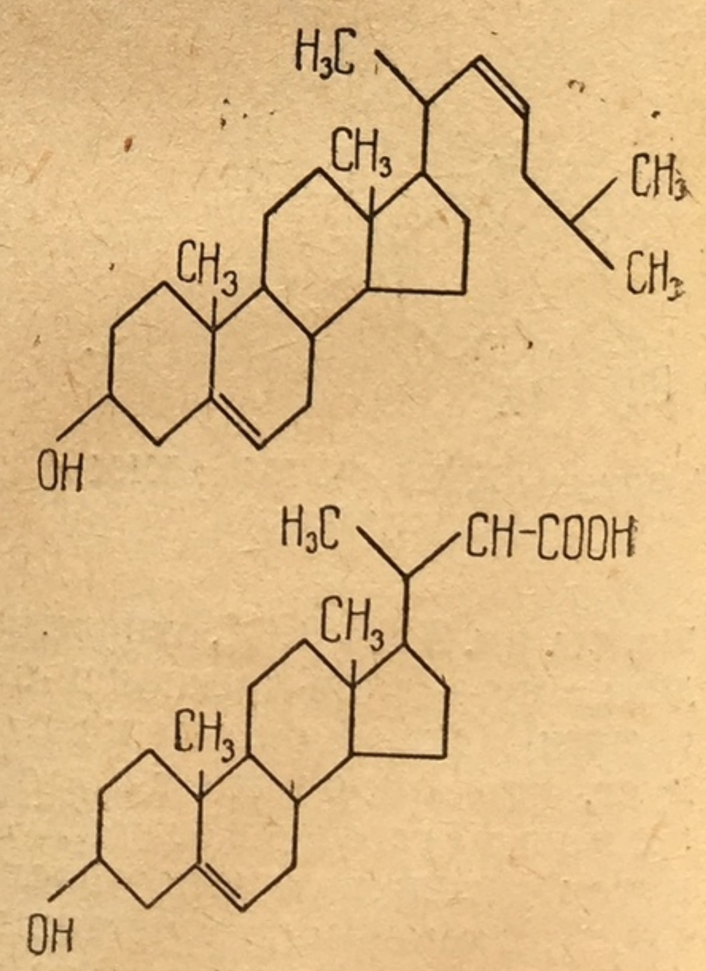
Оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$ с т. пл 152° выделен из мочи беременных наряду с прегнандиолом, а также непосредственно может быть из него получен (см. выше). Физиологически недеятельное тело, представляет в кристаллическом виде большие призмы с т. пл. 152° и не идентичен алло-прегнан-ол-ону (20), оксикетону той же бруттоформулы, но с т. пл. 194°, выделенному из экстрактов желтого тела. Конституциональная формула этого оксикетона отвечает cis-изомеру (XX).

Соответственно оксикетон — т. пл. 152° — является тогда прегнан-ол-оном (3) и относится, следовательно, по своей изомерии к ряду прегнандиола.

Семикарбазон прегнан-ол-она (3) с очень большим трудом кристаллизуется и показывает тем-



(XX)



(Продолжение на след. стр.)

(*Продолжение*)

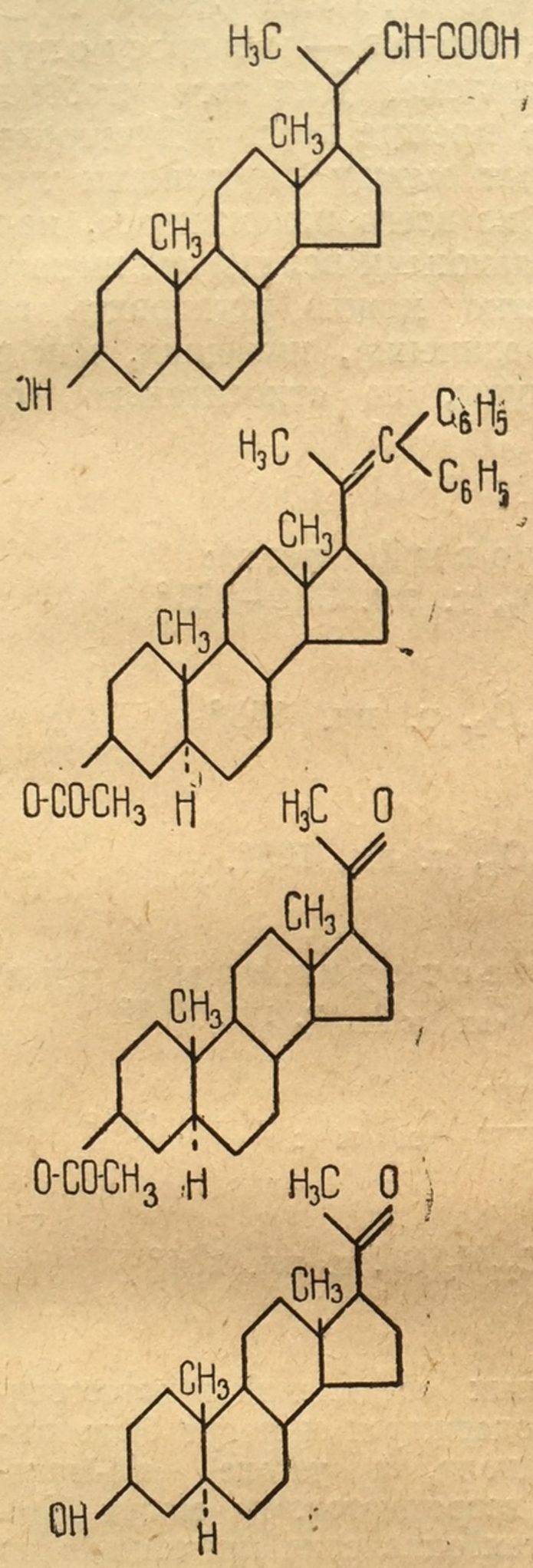
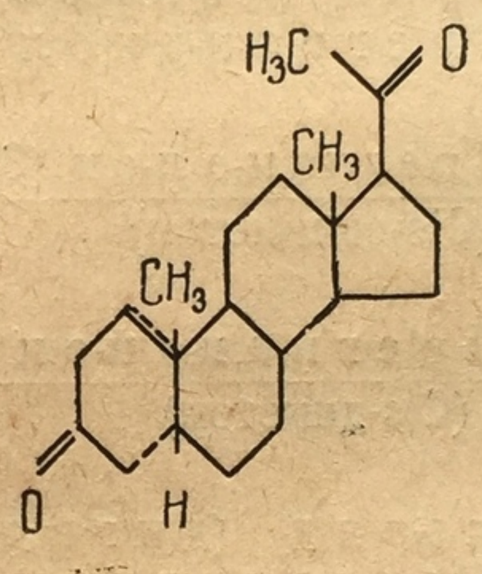


Схема синтеза Алло-прегнан-ол(3)-она(20) по Бутенандту и Мамоли.

пературу плавления 203—204°. При окислении хромидами оксикетон дает дикетон-прегнан-ди-он $C_{21}H_{32}O_2$, с точкой плавления 123°, идентичный дикетону, который получается при окислении прегнандиола, и отличный от дикетона с т. пл. 204°, получаемого из аллодиола. Соответственно структурная формула прегнан-ди-она с т. пл. 123° будет следующей. (XXI):



(XXI).

Этот дикетон кристаллизуется в бесцветных иглах, дает положительную иодоформную реакцию и легко растворим в алкоголе, уксусно-этиловом эфире и ацетоне. Образует диоксим (призматические иглы), разлагающиеся при температуре около 250°. Брутто-формула диоксима $C_{21}H_{34}O_2N_2$. Он аналогичен диоксиму дикетона, который возможно получить из прегнандиола.

7. Химический генезис гормона corpus luteum

Подробный и тщательный разбор физиологически не деятельных, но химически необычайно близко стоящих к лутеостерону спутников в животном организме не только позволил укре-

пить знания по структурной химии этого гормона, но и наметил конкретные пути его синтеза. Кроме того этот разбор привел к важнейшей проблеме биохимии гормонов — к вопросу о путях образования их в животном организме. Для того чтобы подойти к этому вопросу необходимо прежде всего резюмировать те отношения, которые существуют между спутниками лутеостерона и которые, как следует из всего изложенного, являются достаточно запутанными и сложными вследствие имеющей место cis-trans-изомерии. Конкретно можно установить следующий ряд самостоятельных соединений, имеющих, как мы видели, одинаковые брутто-формулы, но относительно друг друга являющихся изомерами:

Cis-ряд (копростериновый ряд):
1. Прегнан-диол $C_{21}H_{36}O_2$, т. пл. 234—235°

2. Прегнан-ол-он (3) / (Cis-оксикетон) $C_{21}H_{34}O_2$, т. пл. 153°

3. Прегнан-ди-он / (Cis-дикетон) $C_{21}H_{32}O_2$, т. пл. 123°.

Trans-ряд (дигидро-холестериновый ряд):
1. Алло-прегнан-диол $C_{21}H_{36}O_2$, т. пл. 248°

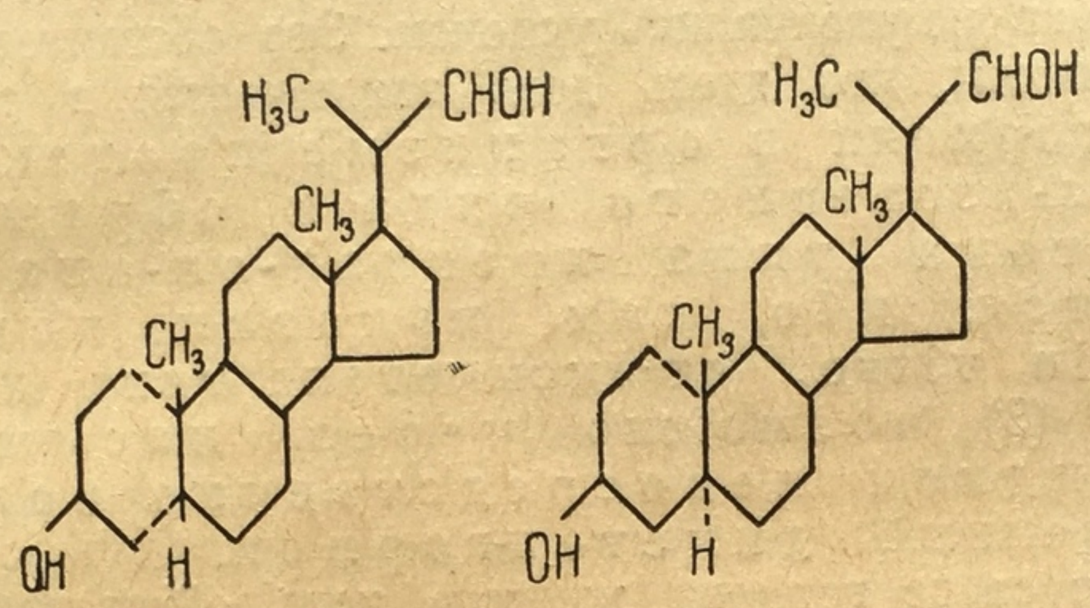
2. Алло-прегнан-ол-он (20) / (trans-оксикетон) $C_{21}H_{34}O_2$ т. пл. 194°

3. Алло-прегнан-ди-он / (trans-дикетон) $C_{21}H_{32}O_2$, т. пл. 204°

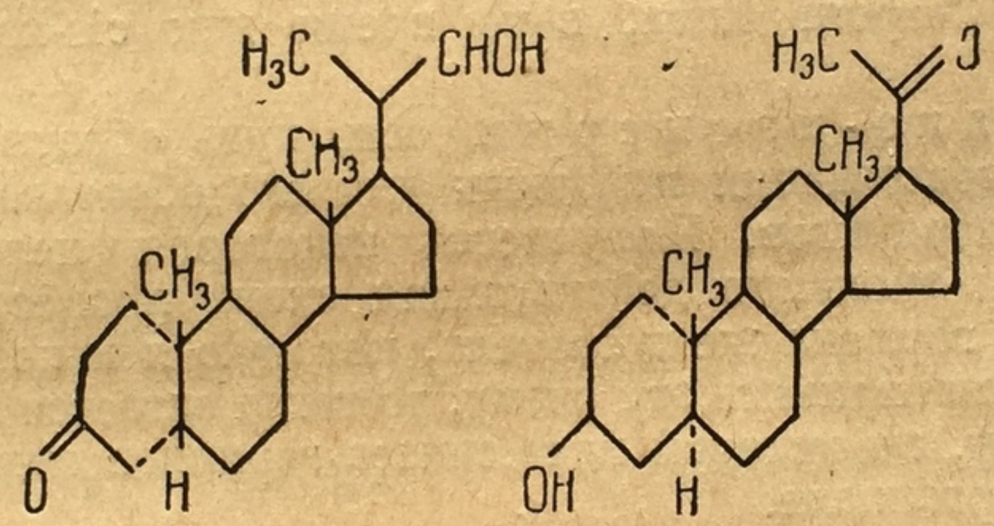
Из приведенных шести изомерных соединений в естественных продуктах (моча, яичники) содержатся и могут быть выделены cis-trans-формы прегнандиола, а также cis-trans-формы оксикетонов. Дикетоны не встречаются, но могут быть получены, как было показано, путем окисления прегнандиолов или оксикетонов.

Уже простое сравнение брутто-формул приводит к мысли, что оксикетоны (B) более бедные (на 2 атома) водородом, нежели, соответствующие им прегнан-алкоголи (A) образуются путем дегидрирования вторичной алкогольной группы последних. Окисление оксикетонов ведет к образованию дикетонов (C) от которых переход к гормону (D) на основе приводимой ниже (стр. 117) схемы становится понятным.

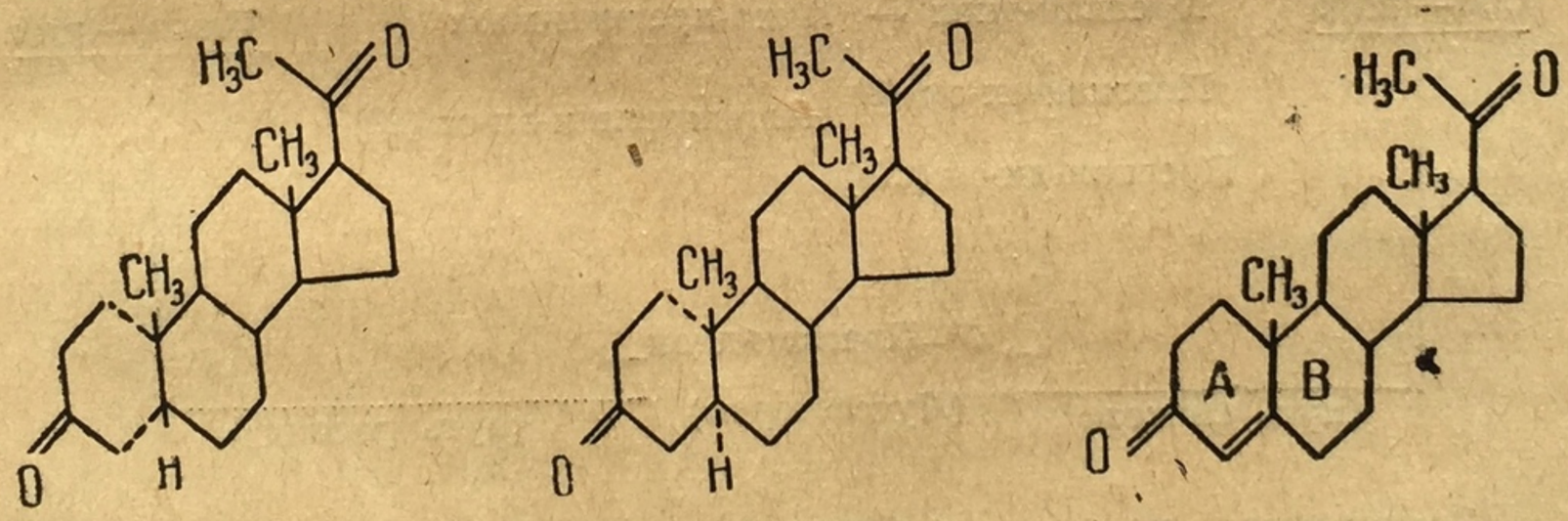
Из этой схемы следует, что процесс синтеза гормона желтого тела составляется из ряда последовательных окислительных деградаций «стеринов беременности», имеющих в своей основе кольчатый скелет восстановленных колец фе-



A



B



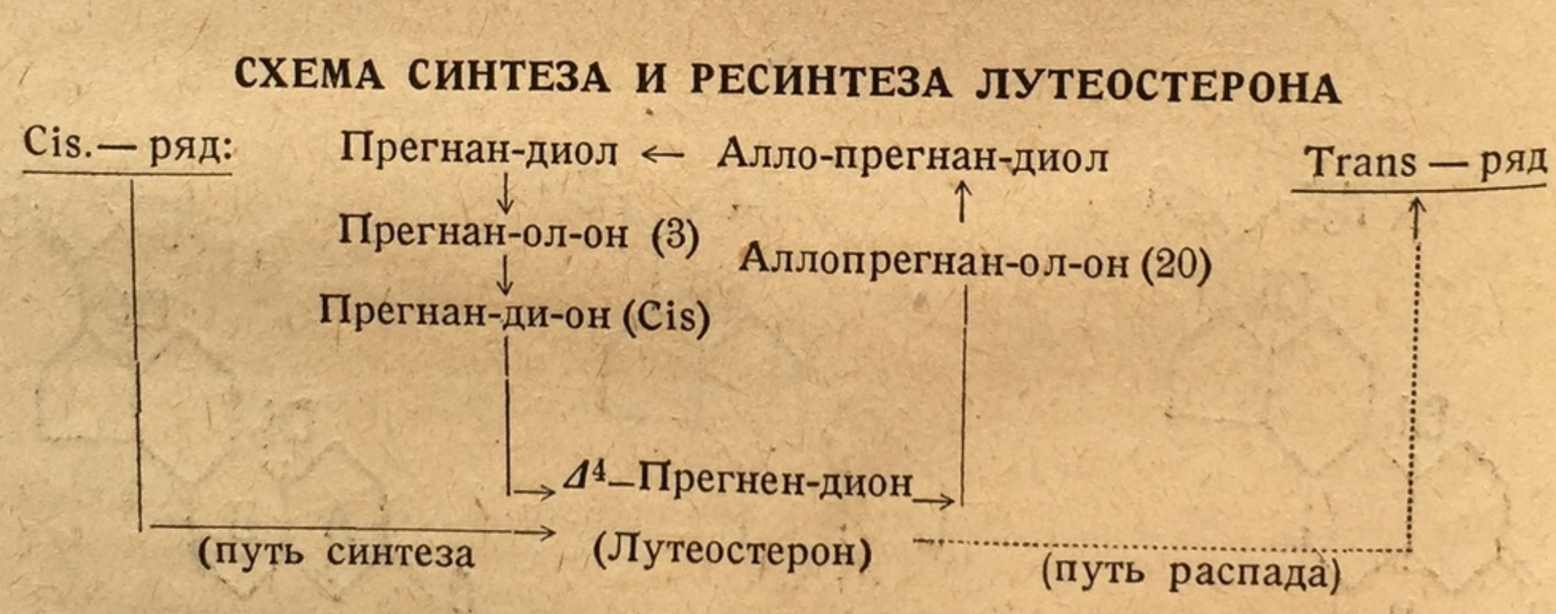
C D

нантрена, характерный для холестерина. Положение двойной связи в формуле лутеостерона у C_5 исключает для него cis-trans-изомерию в месте соединения колец A и B, однако обусловливает одновременно возможность таковой в продуктах

гидрирования гормона при насыщении двойной связи, что и имеет место в самом деле. Поэтому следовало ожидать в моче или яичниках помимо алло-прегнан-ол-она (20) также и его cis-форму — прегнан-ол-он (20). Тем не менее она никогда не наблюдается и все попытки выделить ее из естественных продуктов не увенчались успехом. Это обстоятельство приводит к мысли, что здесь дело заключается в следующем: синтез гормона в организме протекает по пути cis-изомерного ряда и образования оксикетона типа прегнан-ол-она (20) не требуется, ибо, как показал подобный синтез in vitro, от оксикетона типа прегнан-ол-она (3) возможно через насыщенный прегнандион непосредственно получить ненасыщенный дикетон-гормон. Наоборот, при обратном распаде гормона желтого тела образование trans-изомера оксикетона является неминуемым, что в самом деле имеет место; этот изомер находят обычно в качестве спутника гормона в Corpora lutea, в то время как cis-изомер отсутствует.

Путь trans-изомерии есть путь обратного распада гормона и воссоздания исходных для его образования промежуточных продуктов. Получается некоторая целесообразная замкнутая и экономно действующая схема процессов синтеза и ресинтеза гормона желтого тела, которую я и позволю здесь привести. Если принять эту схему, то тогда остается лишь найти общую схему, по которой идет синтез гормонов пола вообще в животном организме.

СХЕМА СИНТЕЗА И РЕСИНТЕЗА ЛУТЕОСТЕРОНА



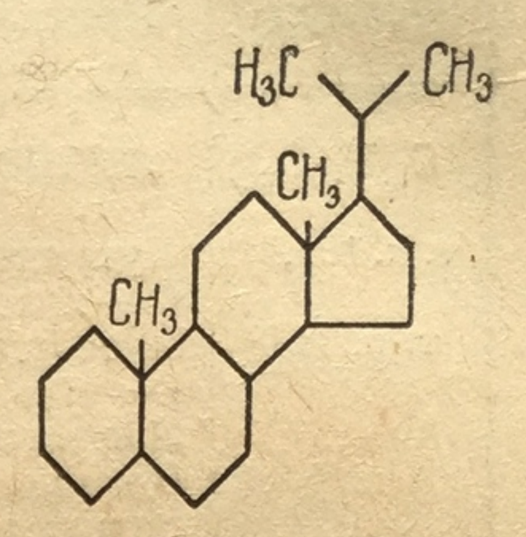
Заканчивая на этом разбор химии лутеостерона, несколько слов по поводу номенклатуры, предложенной Бутенандтом и имеющей все основания быть широко принятой, поскольку разбор генезиса лутеостерона позволяет считать «прегнан» одним из важнейших исходных веществ для его синтеза.

По аналогии с «эстраном» родоначальным углеводородом

для гормона и его дериватов Бутенандт считает «прегнан» $C_{21}H_{36}$, приписывая ему формулу (XXII).

Соответственно классической номенклатуре холестериновых дериватов следует тогда обозначать:

Насыщенные алкоголи—прегнан-диоли
Ненасыщенные алкоголи—прегнен-диоли
Насыщенные оксикетоны—прегнан-ол-оны
Ненасыщенные оксикетоны—прегнен-ол-оны
Насыщенные дикетоны—прегнан-ди-оны
Ненасыщенные дикетоны—прегнен-ди-оны



(XXII).

На табл. 6 приводится сопоставление номенклатур для гормона желтого тела, его дериватов и спутников.

Резюмируя весь приведенный материал, можно без преувеличения сказать, что химия гормона желтого тела в настоящее время настолько исчерпывающе изучена, сам гормон выделен различными путями в синтетическом виде, что вопрос об этом соединении с точки зрения конституциональной химии уже не представляет для химика-органика актуального интереса. Обратная картина имеет место для фолликулярного гормона, синтез которого есть вопрос только времени.

МУЖСКИЕ СЕКСУАЛЬНЫЕ ГОРМОНЫ

1. Тестикулостерон — тестикулярный гормон

Выделенный в кристаллическом состоянии из мочи мужчин (Бутенандт и Черниг) тестикулярный гормон показал свойства весьма его приближающие к фолликулостерону: он также стабилен в отношении кислого и щелочного гидролиза, переносит высокие температуры и сублимацию. Но характерным свойством, отличающим его от фолликулярного гормона, является его нейтральный характер, указывающий на насыщенность и связанную с этим его нерастворимость в концентрированных кислотах и щелочах.

Чистый кристаллический тестикулярный гормон представляет собой тело, свободное от азота, серы и фосфора. По элементарному составу он соответствует брутто-формуле

$$C_{19}H_{30}O_2.$$

Обработка препарата гидроксильными реактивами (хлористый бензоил, фенилцианат, ацетилирование), а также карбонильными (гидроксиламин, семикарбазид, фенилгидразин) дала убедительные доказательства, что один атом кислорода связан в виде ОН-группы, а другой образует СО -группу. Отсутствие реакции с

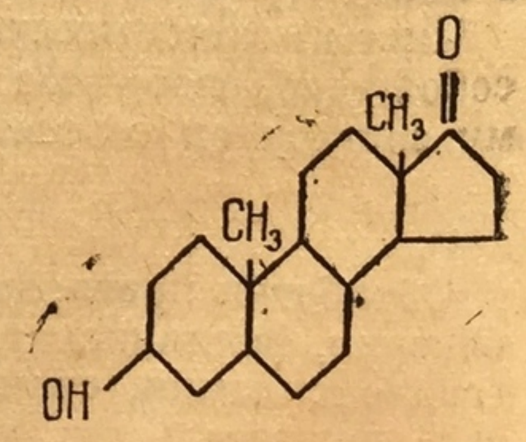
Таблица 6

Формула	Номенклатура предлагаемая	Номенклатура Бутенандта
$C_{21}H_{30}O_2$	**ЛУТЕОСТЕРОН** (Р) (С)	Δ^4-прегнен-ди-он (20) (3)
т. п. 128,5° т. п. 121°	Лутеостерон — α (Р) С — лутеостерон (С) Лутеостерон β (Р) D-лутеостерон (С) **Проджестин** (К) **Корпорин** (Ф) **Реляксин** (Ф)	полиморфные формы
$C_{21}H_{32}O_2$	**Дигидро-лутеостерон**	Δ^4-Прегнен-ол (20)-он (3)
$C_{21}H_{32}O_2$	**Дезоксо-лутеостерон**	Δ^5—дезоксо-прегнен-ди-он (20)
$C_{21}H_{36}O_2$	Прегнан-ди-ол	Прегнан-диол
$C_{21}H_{36}O_2$	Алло-Прегнан-ди-ол	Аллопрегнан-дило
$C_{21}H_{34}O_2$	Оксикетон (3)	Прегнан-ол-он (3)
$C_{21}H_{34}O_2$	Алло-оксикетон (20)	Прегнан-ол (3)-он (20)
$C_{21}H_{32}O_2$	Стеро-дикетон	Прегнан-ди-он (cis)
$C_{21}H_{32}O_2$	Алло-стеро-дикетон	Прегнан-ди-он (trans)

Примечание. В скобках обозначены начальные буквы авторов: (Р) — Ремезов, (С) — Слотта, (Ф) — Февольд-Гайсоу-Мейер.

бромом доказывает наличие насыщенного кетона. Совпадение некоторых свойств тестикулостерона и фолликулостерона объясняется их идентичным кольчатым скелетом, единственное различие — в насыщенности обоих гормонов.

Конституциональная формула тестикулостерона (XXIII) показывает, что этот гормон является насыщенным тетрациклическим окси-



(XXIII.)

кетоном, гидроксильная группа которого доказывается характеристическим оксимом $C_{19}H_{37}O_2N$ с т. пл. 215° и рядом эстеров (ацетат, бензоат, пропионат), в то время как образование семикарбазона — $C_{21}H_{32}O_3N_3$, т. пл. 272—274°, говорит о наличии одной CO-группы.

Кристаллическая форма естественного тестикулостерона характерна и не показывает полиморфизма. При кристаллизации из уксусно-этилового эфира образуются призматические кристаллы, напоминающие кристаллы α-фолликулярного гормона; при кристаллизации гормона из гексана или разведенного алкоголя получаются характерные тонкие иглы (рис. 69), имеющие т. пл. 178° (некоррег.) или 181° (коррегированная величина).

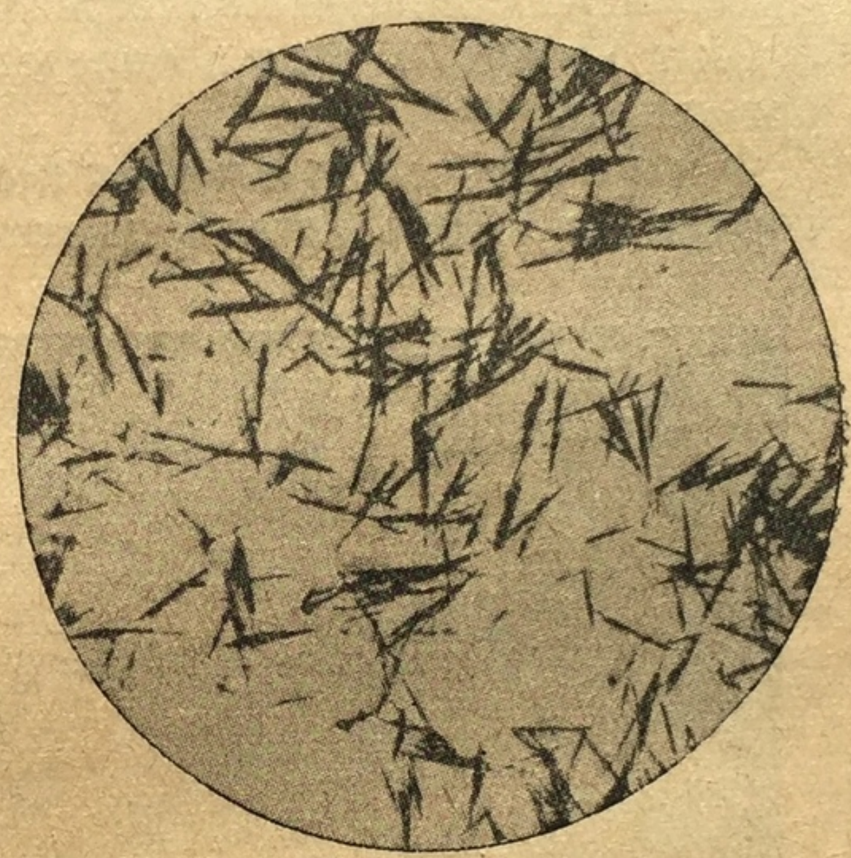


Рис. 69. Кристаллы х. ч. тестикулостерона, выделенного из мужской мочи. Выкристаллизованы из разведенного алкоголя.

Сложнее обстоит вопрос с продуктами, получаемыми синтетическим путем, где вследствие имеющейся изомерии различные препараты имеют разные точки плавления. Но для естественного высоко активного тестикулостерона остается характерной точка плавления 181—182°.

Оптические свойства кристаллического препарата выражаются характерным оптическим вращением:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = +94{,}6^\circ \text{ (абс. алкоголь)}$$

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = +103{,}5^\circ \text{ (метанол)}$$

Поглощение в ультрафиолете дает максимум абсорпции примерно в тех же пределах, что и женские сексуальные гормоны, совпадая также с спектром поглощения Epi-изомеров дигидрохолестерина (рис. 70).

Растворимость кристаллизатов стерона является также характерной: прежде всего в отличие от фолликулярного гормона, они совершенно не растворимы ни в воде, ни в концентрированных или разведенных щелочах; легко растворимы в органических средах, среди которых на первом месте стоит гексан, хлороформ, абсолютный алкоголь, метанол, уксусно-этиловый эфир, а также растворимы при подогревании в растительных маслах. В виде масляных

растворов они обычно применяются для биологической проверки.

Физиологическая активность тестикулостерона в кристаллическом виде составляет в биологической пробе на петушьем гребешке:

1 г = 10.000 НЕ

и проявляется в специфическом воздействии на рост первичных и вторичных половых признаков у кастрированных животных. Таким образом, тестикулярный гормон наряду с фолликулостероном является также могучим химическим фактором роста определенных клеток и тканей живого организма.

Физико-химические свойства и реакции гормона в общем исчерпываются приведенными выше констан-

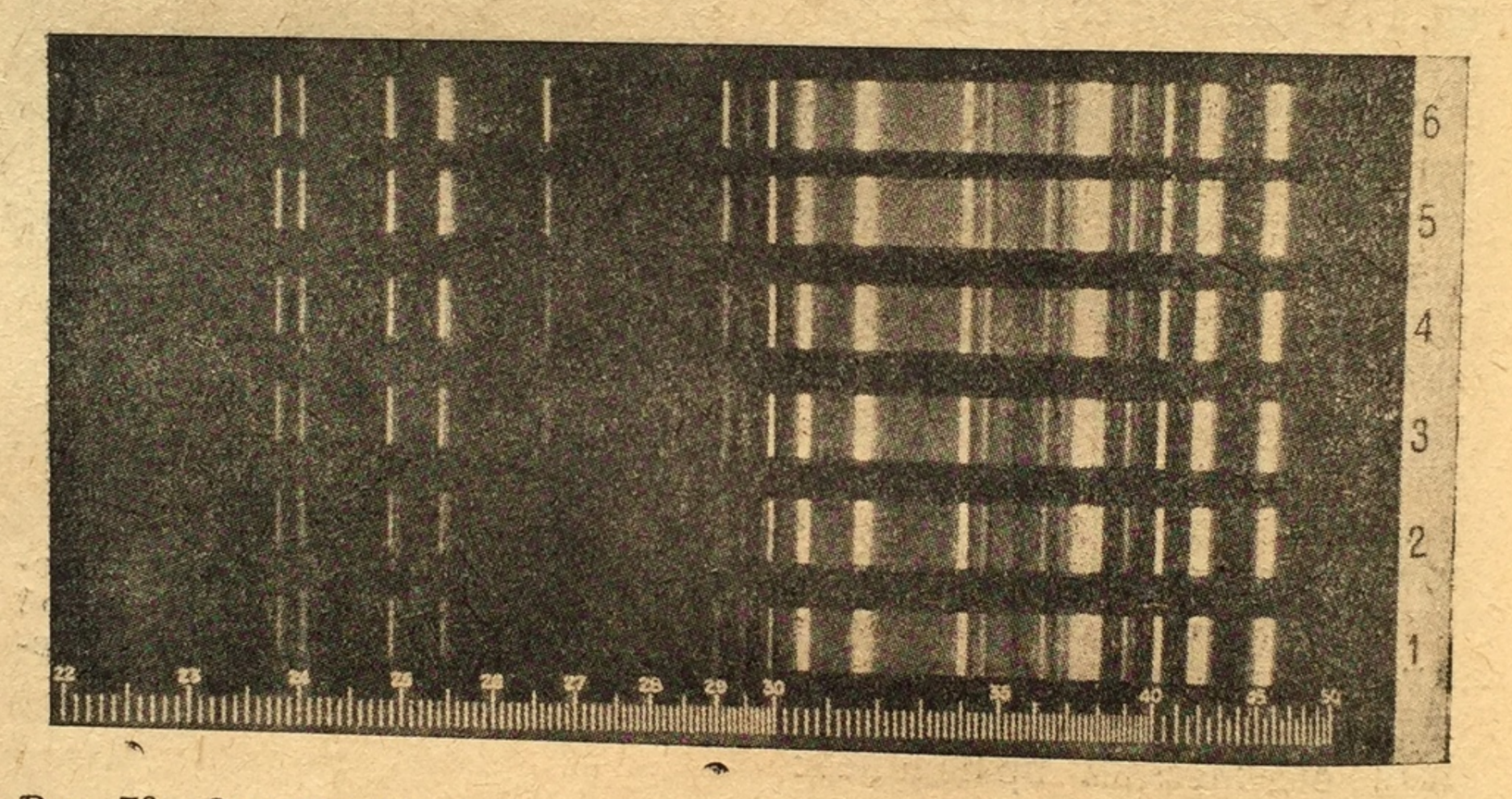


Рис. 70. Спектры поглощения в ультрафиолете препаратов кристаллического тестикулостерона. 1 — препарат, выделенный из мочи; 2 — препарат синтетич. «андростерона» (тестикулостерона); 3—то же с т. пл. 183°; 4— препарат дигидротестикулостерона; 5 — препарат эпи-холестаноля; 6 — препарат дигидрохолестерина.

тами. Здесь, так же как и для всех остальных гормонов, нельзя установить специфической химической реакции и потому единственным критерием для биохимического идентифицирования гормона служит биологическая проба на животном.

Из дериватов тестикулярного гормона следует отметить следующие:

Оксим тестикулостерона $C_{19}H_{37}O_2N$ получается при обработке гормона гидроксиламином в уксуснокислом растворе. Кристаллизуется из метанола в иглах и листочках с т. пл. 209—211°. После сублимации в высоком вакууме получаются только иглы с т. плавления 215°. Физиологически не деятелен.

Ацетат тестикулостерона $C_{21}H_{34}O_3$ образуется при стоянии пиридинового раствора гормона с ангидридом уксусной кислоты. После перекристаллизации из метанола и высоковакуумной сублимации выходят иглы с т. плавления 159—161°. Образует оксим ацетата с т. пл. 215°.

Пропионат тестикулостерона $C_{22}H_{33}O_3$ образуется в тех же условиях, что и ацетат, при применении пропионового ангидрида. Игольчатые кристаллы (из метанола и после сублимации) с т. пл. 145—148°.

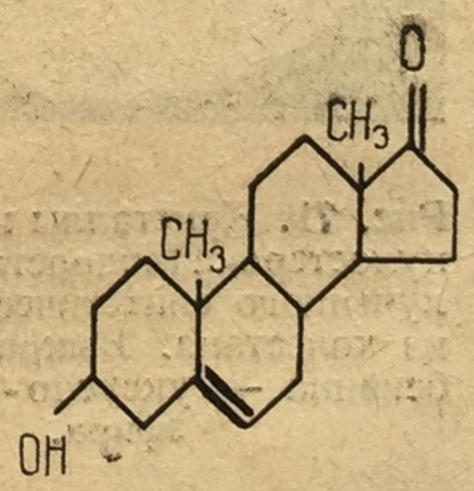
Нужно указать на препараты Фраттини и Маино, которые отличаются не только по плавкости (т. пл. 210°), но и рядом свойств, противоречащих конституциональной формуле тестикулостерона (кислый характер их препарата, некоторая растворимость в воде, феномен течки и т. д.). Очевидно, что здесь или неочищенный препарат гормона или иной продукт — производное или дериват последнего

Блестящие работы, проведенные в 1934 г. Ружика и его школой (Ruzicka—Goldberg—Meyer—Brüngger) по синтезу тестикулярного гормона, завершили вопрос о химии этого соединения и кроме того дали полное объяснение его химического генезиса и химической конституции. Поэтому характеристика, приведенная выше для естественного, выделенного из мужской мочи гормона, является не только обоснованной, но и достаточно проверенной многими исследователями.

2. Производные тестикулостерона

В отличие от производных и спутников гормона желтого тела, большинство известных производных тестикулярного гормона являются физиологически активными и представляют в этом отношении картину, аналогичную фолликулярному гормону.

Дегидро-тестикулостерон, выделенный впервые Бутенандтом из мочи мужчин, а также путем обработки чистого гормона металлическим натрием в алкогольном растворе, представляет дегидро-дериват формулы —Δ^5.3. окси-этиохоленона-17, (XXIV).



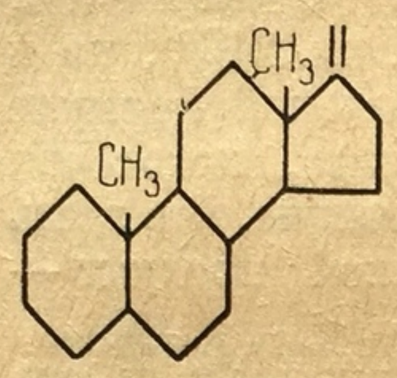
(XXIV)

Брутто-формула $C_{19}H_{28}O_2$; легко растворим в органических средах, кристаллизуется из метанола в виде листков и пластинок с т. пл. 219°. При ацетилировании образует характерный ацетат (т. пл. 159—160°), который показывает в 3 раза более сильное физиологическое действие, нежели чистый гормон.

Кето-тестикулостерон, или «андростанон» выделенный Бутенандтом и Данненбаумом (Butenandt — Dannenbaum), был получен из хлоркетона $C_{19}H_{27}OCl$, является спут-

ником гормона и находится также в мужской моче. Этот хлоркетон позволяет превращать себя и в гормон и в его кетодериват — «андростанон» (кето-тестикулостерон). По элементарному составу (C=83,14; H=11,02) он является кетоном брутто-формулы $C_{19}H_{30}O$ и получается также синтетически из холестана [Фернгольц—Шакраворти (Fernholz—Chakravorty)] путем окисления последнего хромовой кислотой.

Тогда, очевидно, кето-тестикулостерон, или «андростанон», является «этио-аллохоланоном (17)» конституциональной формулы (XXV).



(XXV).

Он представляет собой стойкое тело, которое после сублимации и повторной кристаллизации плавится при 121°. Из смеси бензина и уксусно-этилового эфира выходит в виде длинных заостренных игл (рис. 71), показывающих слабую анизотропию. При обработке кетореактивами образует семикарбазон $C_{20}H_{33}ON_3$, кристаллизующийся в виде призматических листков с т. пл. 263—266° (семикарбазон из синтетического продукта Фернгольца имеет т. пл. 275°). Физиологическая проверка показала, что препарат дает положительный биологический эффект в пробе на петушиный гребень примерно в дозах 2—3 миллиграмма.

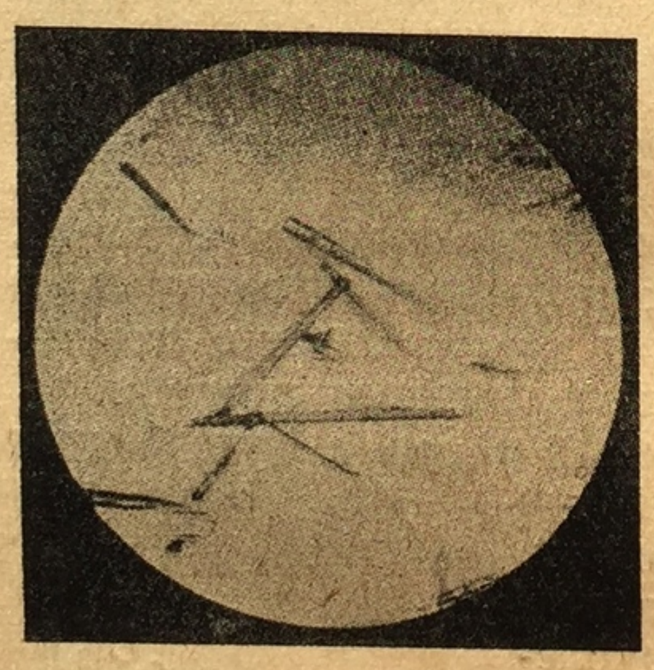
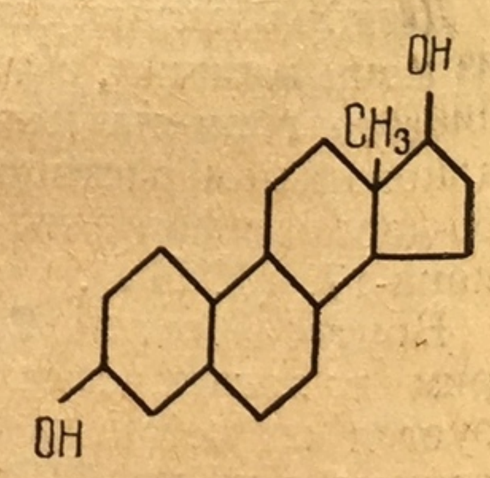


Рис. 71. Кристаллы кето-тестикулостерона (андростанона), полученного синтетическим путем из холестана. Выкристалл. из бензина — уксусно-этилового эфира.

Окто-гидро - тестикулостерон представляет собой очень интересный, окончательно еще не идентифицированный, дериват тестикулярного гормона, который был получен Шеллером — Швеником и Гильдебрандтом путем каталитического гидрирования α-фолликулярного гормона. В результате получается аморфный продукт — окто-гидро-дериват состава $C_{18}H_{30}O_2$, имеющий повидимому выше приведенную структурную формулу (XXVI).



(XXVI)

Этот препарат представляет, повидимому, недостаточно восстановленный дигидротестикулостерон или промежуточный продукт при образовании последнего. Во всяком случае наибольший интерес представляет образование этого препарата из женского сексуального гормона, а также наличие физиологического эффекта в пробе с петушиным гребнем, хотя и при применении сравнительно высоких доз. Образование этого октогидродеривата из фолликулина наблюдали также Дишерль и Фосс (Discherl—Voss).

Андростан-диол — $C_{19}H_{32}O_2$ получается при восстановлении андростерона металлическим натром в пропиловом алкоголе. По своей конституциональной формуле может быть охарактеризован как (3) эпи-(17)-оксиэтиоаллохоланон и имеет следующие константы:

точка плавления 221° (иглы из разведенного ацетона или алкоголя). Оптическое вращение $[\alpha]_D^{20°} = +12{,}5°$; образует при кипячении с ангидридом уксусной к-ты диацетат с т. пл. 159—160° и $[\alpha]_D^{20°} = +12{,}5$. Отличается высоким физиологическим эффектом будучи активным в дозах от 25 γ на 1 НЕ.

Изо-андростерон — $C_{19}H_{30}O_2$ представляет изомер андростерона по пространственной конфигурации ОН—группы. Это соединение чрезвычайно важно потому, что может легко быть получено из андростерона (окислением хромовым ангидридом) из дигидрохолестерина и синтетически из аллопрегнан-олона (20). Таким образом изоандростерон связывает группу дериватов гормона желтого тела (Лутеостерона) с мужским сексуальным гормоном. По химической структуре может быть, в отличие от эпимера-андростерона, обозначен как (3)-оксиэтиоаллохоланон (17). Легко кристаллизуется из разведенного алкоголя в листочках с т. п. 170—171°. Путем слабого окисления может быть переведен в дикетон-андростан-дион. Физиологическая активность изо-андростерона под сомнением — в дозах до 1 мгр. он ясного эффекта в петушиной пробе не показывал.

Андростан-ди-он — $C_{19}H_{28}O_2$ представляет собою (3) (17) дикетоэтиоаллохоланон физиологически активный в дозах: 1 НЕ=400 γ. Кристаллизуется в листочках с т. п. 132—133° (из ацетона) и 126—127° (из алкоголя).

В самое последнее время (август—сентябрь 1935 года) Бутенандт получил синтетическим путем из дегидро-андростерона продукт, который при ближайшем рассмотрении оказался идентичным т. наз. «Тестостерону» — второму мужскому сексуальному гормону о выделении которого из бычьих яичек было недавно (1935 г.) сообщено Лакером-Дэвидом-Дингмансом-Фрейдом. Достоверность

существования «тестостерона» таким образом безупречно доказана, но мне кажется нет еще оснований принять так же безусловно утверждение, что «тестостерон» представляет собою второй, совершенно самостоятельный гормон мужских половых желез.

Он может легко также быть охарактеризован, как ненасыщенный дериват андростерона, как продукт превращений последнего.

Только физиологическое и биохимическое, самое тщательное изучение этого нового вещества — несомненно андростеронового ряда, особенно его химического генезиса и биологического эффекта по сравнению с прочими дериватами андростерона, позволит по моему мнению отвести «тестостерону» роль самостоятельного, нового мужского сексуального гормона.

По тем же причинам, я воздержался считать — «дегидроандростерон» также новым (третьим по счету) мужским сексуальным гормоном, хотя напр. Бутенандт это поспешно делает в своих работах.

На этом основании, ниже будет дан краткий разбор «тестостерона» и близких ему продуктов превращения дегидроандростерона, пока под рубрикой «производных тестикулостерона».

«Тестостерон» — $C_{19}H_{28}O_2$

«Тестостерон»—$C_{19}H_{28}O_2$ представляет собой ненасыщенный оксикетон и по своей структурной формуле может быть охарактеризован как Δ^4-андростен-ол (17)- он (3). Кольчатый скелет за исключением заместителей у C_{17}— совершенно идентичен конфигурации которую мы уже встречали, у Лутеостерона (Δ^4-прегнен-диона).

Отличается очень высокой физиологической активностью, превосходя в этом отношении андростерон. 1 НЕ = 15—20 γ. По силе эффекта он может сравниваться только с уже приведенным выше дериватом (не самостоятельным гормоном!) андростерона — андростандиолом. Кристаллизуется в иглах, с т. п. 151° (препарат тестостерона Лакера имел т. пл. 154 — 155°). Оптическое вращение алкогольных растворов: $\left[\alpha\right]\frac{18}{D} = +104°$ (по Лакеру=109°). Образует оксим с т. пл. 215° и ацетат, с т. п. 140—144°.

Восстановлением «тестостерона», также дегидро-андростерона можно получить физиологически инактивный андростендиол ($C_{19}H_{28}O_2$) с т. п. 177—178° представляющий —Δ^5(3)—(17)—диокси-этио-холенон, что доказывается легким образованием этим веществом диацетата. При окислении «тестостерона»—или дегидроандростерона получается чрезвычайно интересное соединение, дикетон-андростендион, изучение

которого должно стать самой актуальной задачей современной химии стеронов.

Андростен-ди-он — $C_{19}H_{25}O_2$ по своей структурной формуле является ненасыщенным дикетоном — $\Delta^4(3)$—(17)—дикетоэтио-холеноном: т. пл. 169°; $[\alpha]\frac{18°}{D} = +185°$. Структурная его формула весьма напоминает систему колец дериватов лутеостерона.

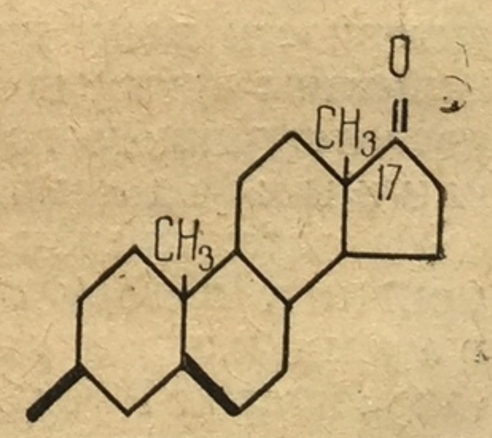
Представляет весьма активный с физиологической стороны препарат, который вызывает в дозах от 100 γ специфический эффект в петушиной пробе.

Однако особый интерес представляет, наблюдение, что этот же препарат при даче его неполовозрелым инфантильным (но не кастрированным) самкам мышей и крыс — вызывает у последних самый непреложный и явственный эффект течки, аналогичный действию фолликулярного гормона.

Очевидно, что этот дериват мужского сексуального гормона по своей химической структуре, представляет то промежуточное звено, которое связывает генетически сексуальные гормоны обоих полов. Изучение его в этом направлении становится неотложным при подходе к окончательному разрешению проблемы генезиса сексуальных гормонов.

3. Химический генезис тестикулярного гормона

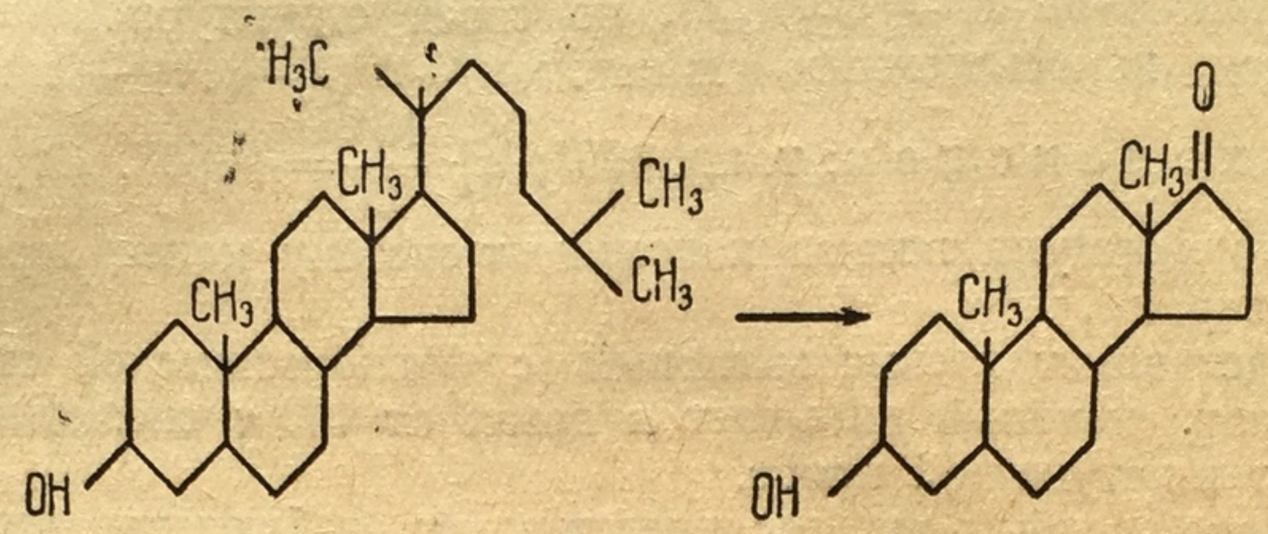
Исследования Ружика и его школы, упомянутые уже выше, привели к разрешению химического генезиса тестикулярного гормона и к его синтезу из холестерина. Эти работы представляют тот особенный интерес, что они приближаются к отношениям, которые имеют место, повидимому, также в животном организме, и на этом основании позволяют установить или по крайней мере наметить пути образования и превращений этого гормона в последнем. Из работ Ружика следует, что в основу родоначального углеводорода, исходного для соединений ряда тестикулярного гормона, нужно положить продукт превращения холестерина и желчных кислот — этиохоланон (17) или, короче, «этиохолан», имеющий конституциональную формулу(XXVII).



(XXVII)

В соответствии с работами Виланда—Шлихтинга и Якоби (Wieland—Schlichting — Jacoby) валентности в приведенной формуле, между C_4 и C_5, а также между C_5 и C_6 определяют cistrans - и epi-изомерию в ряду этиохолана. Путем окисления дигидрохолестерина и β-холестерил-хлорида Ружика смог не только получить кетон — $C_{19}H_{30}O_2$, но выделить и

подробно изучить все стереоизомеры этого ряда. Принципиальная схема реакции представляется в следующем виде:



Вследствие cis-trans-изомерии дигидрохолестерина и копростерина следует ожидать соответствующие им два изомерных оксикетона, и кроме того еще два эпи-оксикетона. Следовательно, здесь возможно образование 4-х форм оксикетонов — «этиохоланонов», что следует также из приведенной формулы «основного» этиохолана. Путем осторожного окисления хромовым ангидридом ацетильных производных, насыщенных холестеридов (копростерина, эпи-копростерина и изомеров дигидрохолестерина), Ружика выделил и идентифицировал все четыре формы оксикетонов и после физиологической их проверки нашел среди них тот, который отвечает тестикулярному гормону.

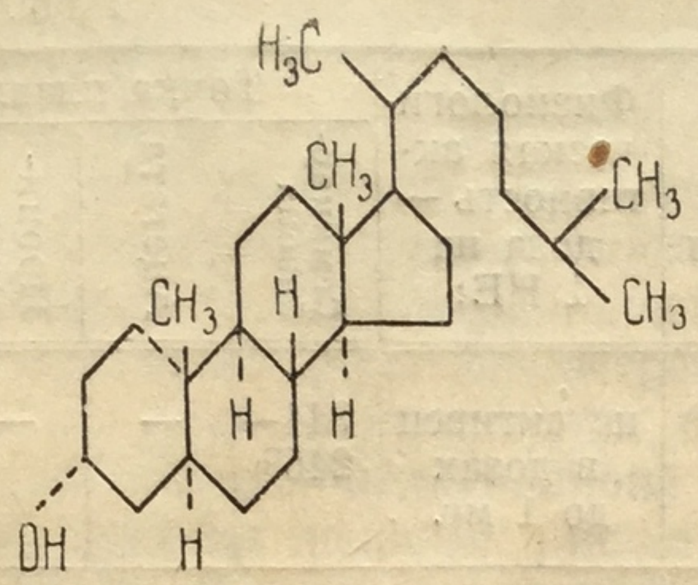
Ниже приводятся стереоизомерные оксикетоны соответственно ряду исходных изомерных холестеридов:

Эпи-дигидрохолестерин (XXVIII) → 3. эпи-окси-этио-аллохоланон (17) — тестикулостерон (XXIX); δ — холестанол (XXX) → 3. окси-этио-холанон (17)—(XXXI) и β — холестанол (XXXII) → 3. окси-этио-аллохоланон (17) — (XXXIII).

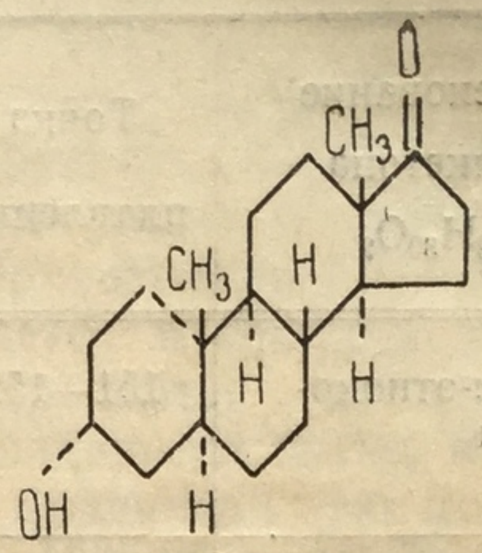
В таблице 7 указаны характерные для этих оксикетонов константы и одновременно даны сведения об их физиологической активности по сравнению с препаратом тестикулярного гормона, выделенного из естественных продуктов (мужской мочи) Бутенандтом. Сравнение физиологической активности всех препаратов было возможно потому, что они испытаны одним и тем же методом — биологическая проба на рост петушиного гребня по Чоппу и выражены в «петушиных единицах» — HE.

Из рассмотрения приведенных в таблице данных нетрудно притти к выводу о тождественности тестикулярного гормона и эпи-окси-этио-алло-холанона (андростерон Ружика). Смесь кристаллизатов обоих препаратов не дает депрессии плавкости, тождественна также в отношении оптических свойств (вращение, максимум абсорпции в ультрафиолетовом свете).

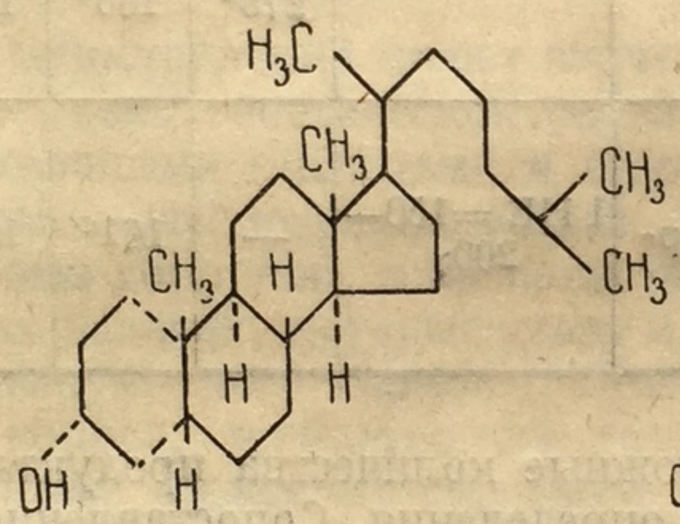
Некоторые расхождения в т. плавления дериватов обоих препаратов не трудно объяснить, если учесть, что в обоих случаях



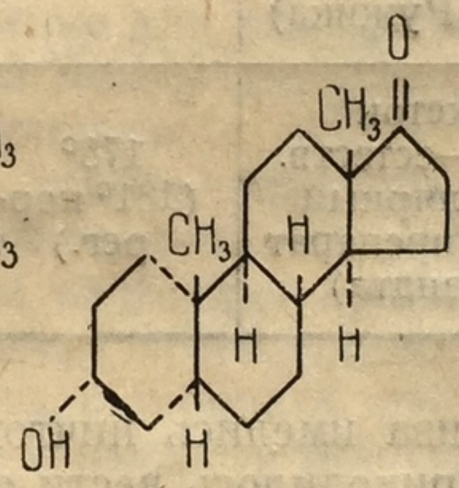
(XXVIII)



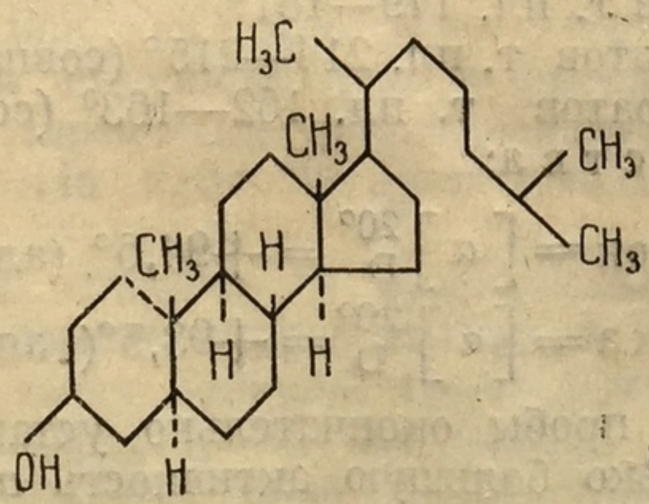
(XXIX)



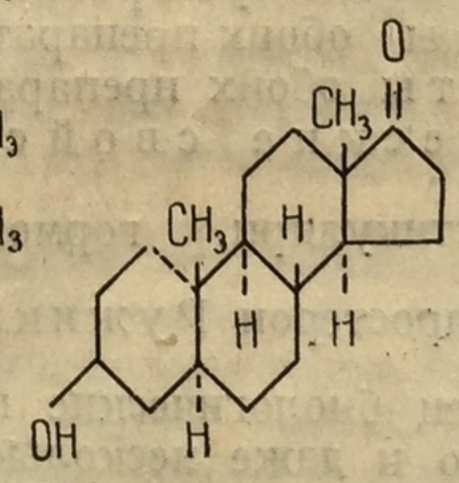
(XXX)



(XXXI)



(XXXII)



(XXXIII)

Таблица 7

Наименование оксикетона $C_{19}H_{30}O_2$	Точка плавления	Физиологическая активность — доза на 1 НЕ:	Точка плавления			
			Семикарбазона	Ацетата	Пропионата	Оксима
Cis-окси-этиохоланон	151—152°	не активен в дозах до 1 мг.	244—245°	—	—	—
Epi-окси-этиохоланон	150—151°	Не актовеи в дозах до 1 мг.	254—255°	—	—	—
Окси-этио-аллохоланон	174 –175°	I НЕ—500γ	261—262°	96-97°	—	182°
Эпи-окси-этио-аллохоланон (андростерон — Ружика)	182°	1 НЕ=70γ	272—273°	164—165°	151—152°	214°
Оксикетон $C_{19}H_{30}O_2$—естеств. тестикулярный гормон (препарат Бутенандта)	178° (181° корр-рег.)	1 НЕ =150—200γ	—	161°	145°	215°

для анализа имелись ничтожные количества продукта, с которыми и приходилось вести определения. Сопоставление данных, полученных Бутенандтом для препаратов андростерона Ружика и естественного гормона представляет интерес, так как цифры были получены в самом конце 1934 г. Были найдены следующие величины:

Андростерон Ружика т. пл. 180—181°
Тестикулярный гормон ест. т. пл. 179—180°
Смесь обоих препаратов т. пл. 179—181°
Оксимы обоих препаратов т. пл. 214—215° (совпали)
Ацетаты обоих препаратов т. пл. 162—163° (совпали)
Оптические свойства:

Тестикулярн. гормон $= [\alpha]_D^{20°} = +94{,}6°$ (алкоголь)

Андростерон Ружика $= [\alpha]_D^{20°} = +93{,}5°$ (алкоголь)

Наконец биологические пробы окончательно устанавливают тождество и даже несколько большую активность препаратов синтетического гормона. При этом важно отметить, что для физиологического действия тестикулярного гормона главную роль играет пространственная изомерия замести-

телей в кольчатом скелете, меньшее значение имеет характер связи гидроксила. В этом отношении здесь нет той чрезмерно выраженной зависимости физиологического эффекта от специфической структуры соединения, которую мы видели у лутеостерона. Тестикулярный гормон оказался таким образом генетически связанным с эпи-дигидро-холестериновым рядом; в качестве производного этого ряда он встречается в природе впервые. Производные ряда копростерина встречаются часто, а окси-кетоны типа cis-окси-этиохоланона находятся также и в продуктах разложения желчных кислот. Сравнивая этот факт с генезом женских сексуальных гормонов, можно составить следующие ряды:

Тестикулярный гормон — эпи-дигидро-холестериновый ряд

Гормон желтого тела — копростериновый ряд

Фолликулярный гормон — циклопентено-фенантреновый ряд

Желчные кислоты — эпи-копростериновый ряд

Все эти сопоставления имеют значение для разбора и попытки установить схему генетической связи между сексуальными гормонами, желчными кислотами и стеринами.

Заканчивая рассмотрение общей химии мужских и женских половых гормонов, я позволю остановиться вкратце на тех ближайших задачах, которые стоят в настоящее время при изучении тестикулярного гормона. Прежде всего остается решить важный вопрос, являются ли «андростерон» и «тестостерон» единственными мужскими половыми гормонами или существуют еще другие изомеры или равноценные, самостоятельные продукты внутренней секреции яичек? С другой стороны, требует своего разрешения также чисто физиологическая сторона вопроса, принадлежит ли целиком «андростерону» функция общего, генерального регулирования мужского генитального аппарата?

В отношении номенклатуры мужского сексуального гормона существует в принципе единство — название «тестикулярного гормона» как «андростерона» вполне удовлетворяет требования номенклатуры, а исходя из «этио-аллохоланона» выведены химические наименования его дериватов и производных. На табл. 8 приводятся эти номенклатурные данные.

Со своей стороны я придерживаюсь предложенного мною принципа номенклатуры, тем более, что наименование «тестикулостерон» имеет больший смысл в морфологическом отношении нежели «андростерон». Во всяком случае приведенные при разборе каждого вида сексуальных гормонов сравнительные таблицы позволят без труда разобрать существующие отношения и остановиться на наиболее отвечающей номенклатуре.

Таблица 8

Формула	Предлагаемая номенклатура	Номенклатура исходя из „Андростана“	Химическая номенклатура по Бутенандту
$C_{19}H_{30}O_2$	Тестикулостерон (Р)	**Андростерон** (Б) (РУ)	(3)-эпи-окси-этио-алло-холанон (17).
$C_{19}H_{32}O_2$	Дигидро-тестикулостерон	Андростан-диол	3-эпи-(17) окси-этио-алло-холанон.
$C_{19}H_{28}O_2$	Дикето-тестикулостерон	Андростан-ди-он	(3) (17)-дикето-этио-алло-холанон.
$C_{19}H_{30}O$	Кето-тестикулостерон	Андростанон	Алло-этио-холанон (17)
$C_{19}H_{32}$	Алло-этио-холан	Андростан	Алло-этио-холан.
$C_{19}H_{28}O_2$	Тестикулостеноль	Тестостерон (Лакер) Δ^4-Андростен-ол(17)-он(3) (Б)	Δ^4, (3) кето-окси-этиохоленон (17)
$C_{19}H_{28}O_2$	Окси-тестикулостеноль	Дегидро-андростерон	Δ^5, (3) окси-этио-холенон (17)
$C_{19}H_{30}O_2$	Дигидро-тестикулостеноль	Андростен-диол	Δ^5, диокси-этио-холенон (17)
$C_{19}H_{26}O_2$	Дикето-тестикулостеноль	Андростен-ди-он	Δ^4, (3) (17)-дикето-этио-холенон.
$C_{19}H_{30}O_2$	Изо-тестикулостерон	Изоандростерон	(3) окси-этио-алло-холанон (17).

Примечание. Буквы, поставленные в скобках, обозначают начальную букву фамилии автора: (Р) — Ремезов, (Б) — Бутенандт, (Ч) Чернинг, (РУ) — Ружика, (Ф) — Фернгольц.

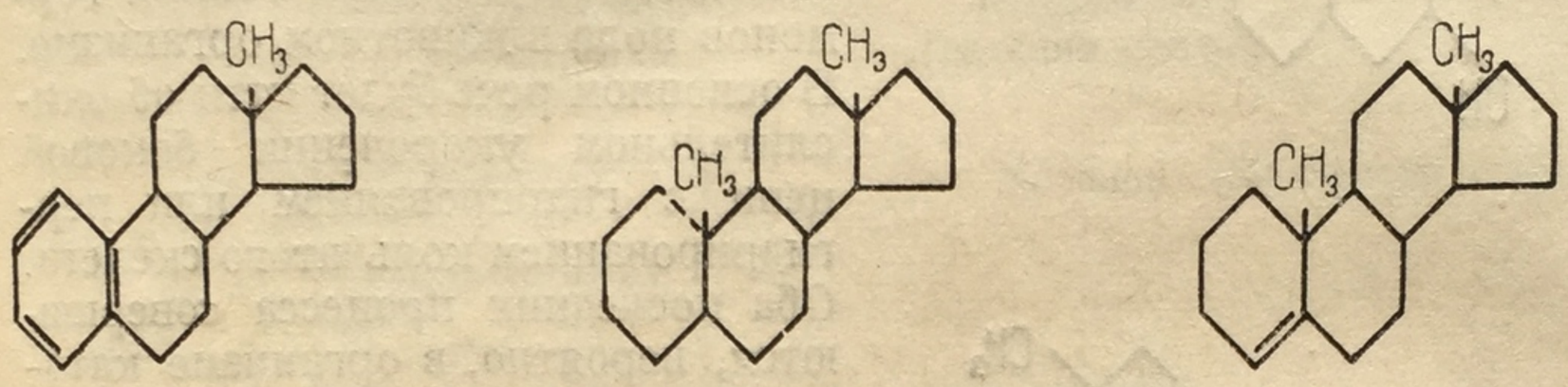
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХИМИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ И СТЕРИНОВ И ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРМОНОВ ПОЛА В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

Вопрос о связи между животными стеринами и гормонами пола есть вопрос о пути, по которому идет синтез этих соединений в организме, ибо иной возможности их образования, как только из холестерина и его дериватов, нельзя себе представить.

Если сравнить формулы сексуальных гормонов между собой и формулы их «родоначальных» углеводородов — эстрана, прегнана и этиохолана, то будет ясно их взаимное родство и их связь со стеринами (см. формулу XXXIII-а на след. стр.).

Очевидно образование фолликулостерона и тестикулостерона подчинено одной и той же закономерности и идет у обоих полов

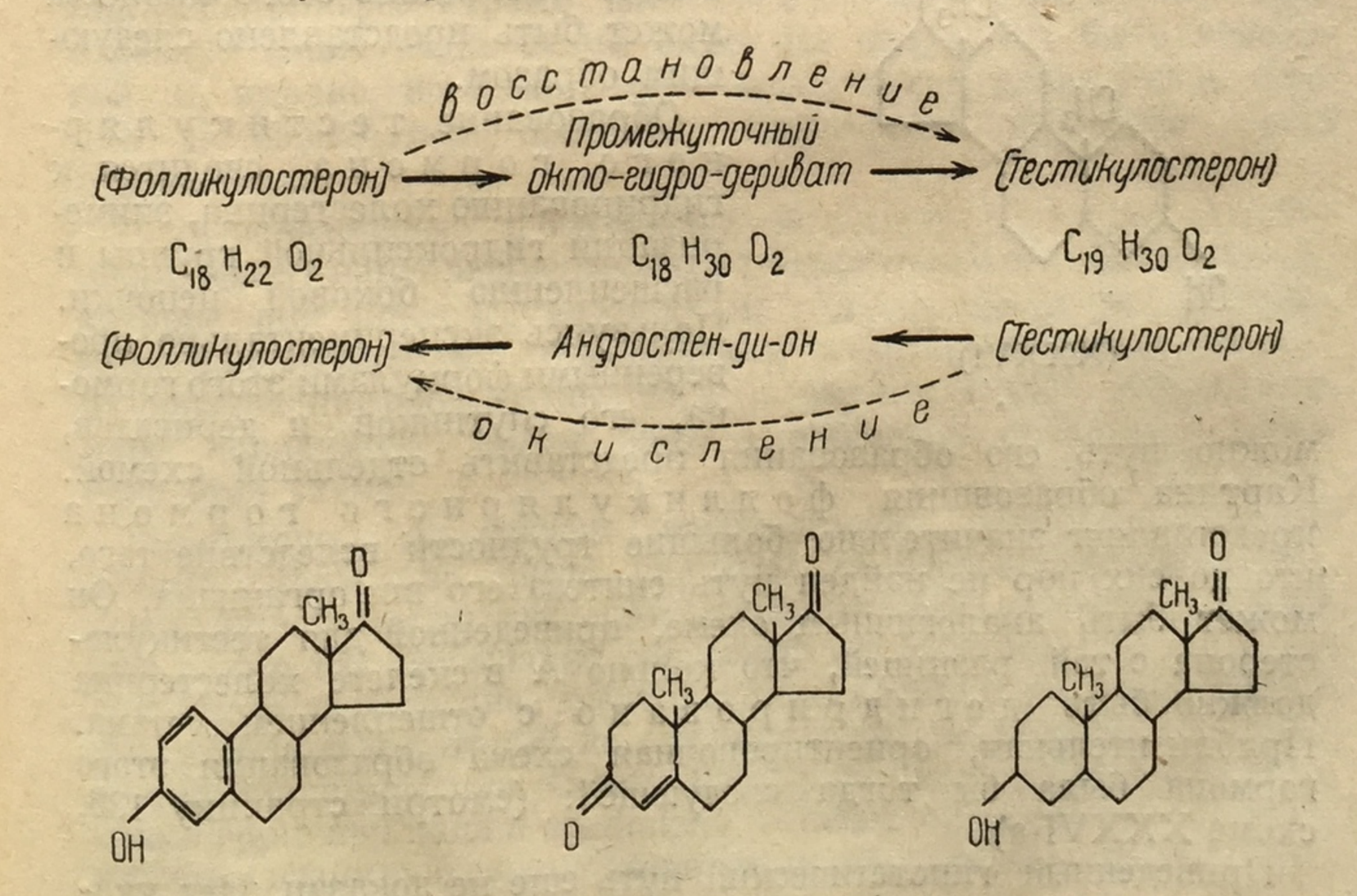
в принципе по одинаковому пути. Представить себе образование этих гормонов из стеринов в общем случае не представляет затруднений — речь идет о закономерном *укорочении боковой цепочки холестерина*. Замена боковой цепи в насыщенных дериватах холестерина (дигидрохолестерин, копростерин), состоящей из 8 углеродных атомов, на Охо-группу

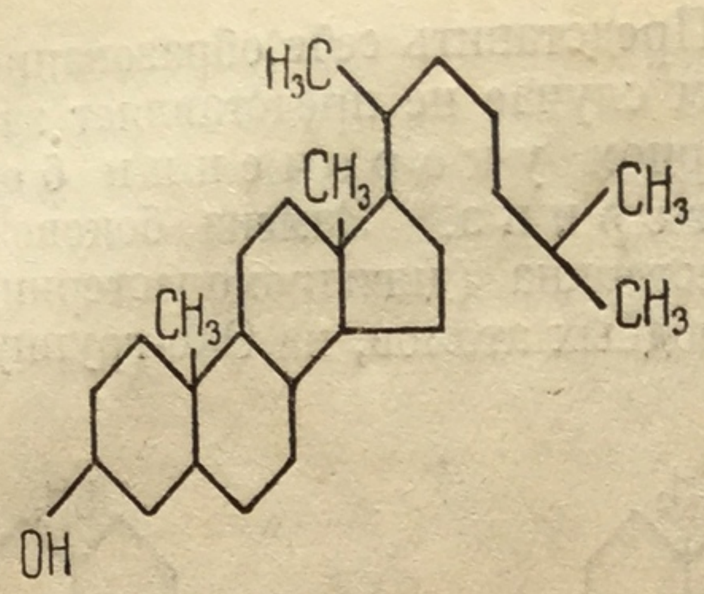


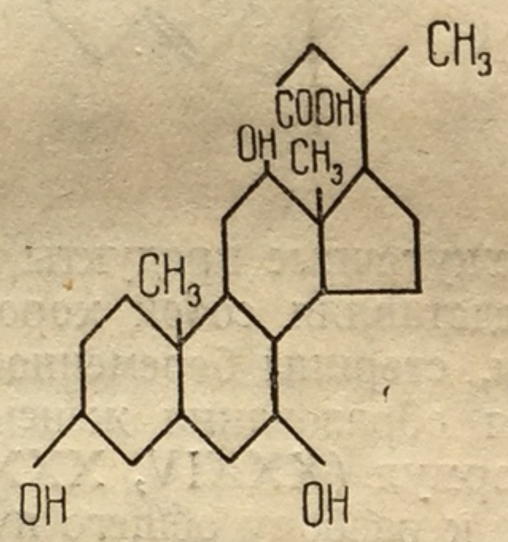
XXXIII-а

приводит к мужскому гормону, а промежуточные продукты подобного укорочения боковой цепи, представляя собой хорошо известные вещества — желчные кислоты, стерины беременности (прегнандиол), служат, повидимому, для образования женских половых гормонов. Приводимый ряд формул (XXXIV, XXXV, XXXVI) позволяет конкретнее подойти к разбору общего пути образования гормонов пола из стеринов и желчных кислот.

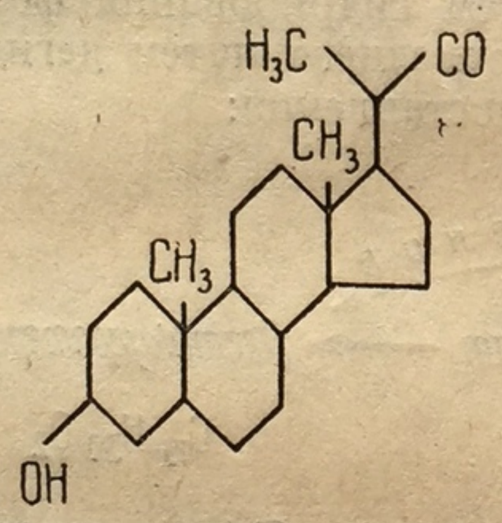
Образование мужского гормона путем гидрирования фолликулярного, и обратное образование последнего путем дегидрирования тестикулостерона следует из сопоставления:







(XXXV)



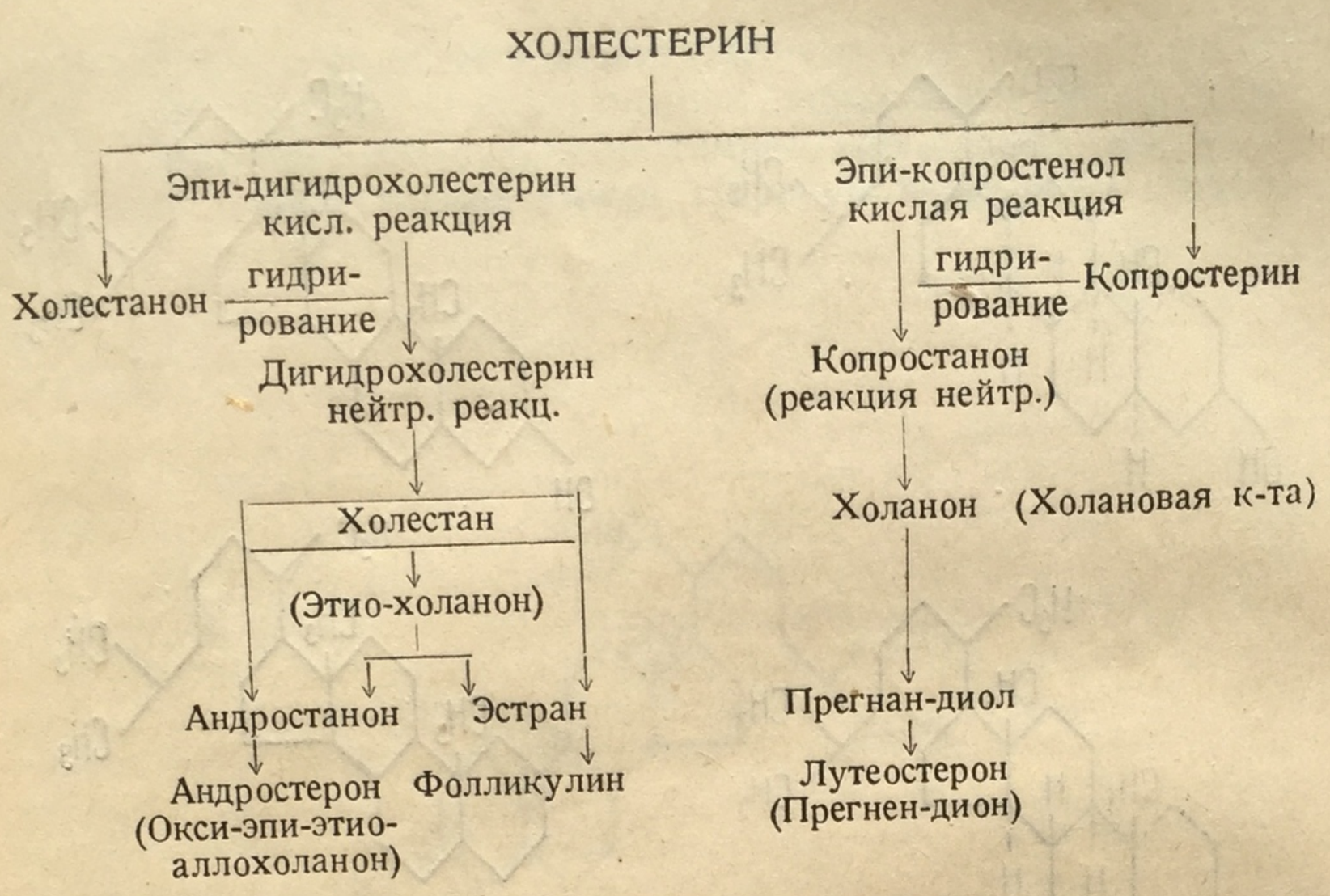
(XXXVI)

Весь этот материал, учитывая, что синтез гормонов пола in vitro, за исключением лишь фолликулостерона, уже осуществлен, естественно, требует обобщения, которое наметило бы конкретными схемами возможные пути образования гормонов пола в животном организме. В основном речь будет итти об окислительном укорочении боковой цепи с гидрированием или пергидрированием кольчатого скелета. Оба последних процесса совершаются, вероятно, в организме каталитически с помощью специфических энзимов, открытие которых должно стать одной из ближайших задач биохимии этих соединений.

Реакции образования гормонов пола из холестерина в организме частично базируются как на экспериментальных данных, позволяющих судить о поведении стеринов вообще, так и на основе опытов по синтезу гормонов пола in vitro. Общее протекание этого процесса может быть представлено следующим образом.

Образование тестикулярного гормона сводится к гидрированию холестерина, эпимеризации гидроксильной группы и расщеплению боковой цепочки. Пользуясь экспериментально проверенными формулами этого гормона, его спутников и дериватов, можно путь его образования представить отдельной схемой. Картина образования фолликулярного гормона представляет значительно большие трудности вследствие того, что до сих пор не найден путь синтеза его вне организма. Он может быть аналогичным схеме, приведенной для тестикулостерона с той разницей, что кольцо А в скелете холестерина должно быть дегидрировано с отщеплением метана. Приблизительная, ориентировочная схема образования этого гормона была бы тогда следующей: (смотри страницу 136, схема XXXVI-а).

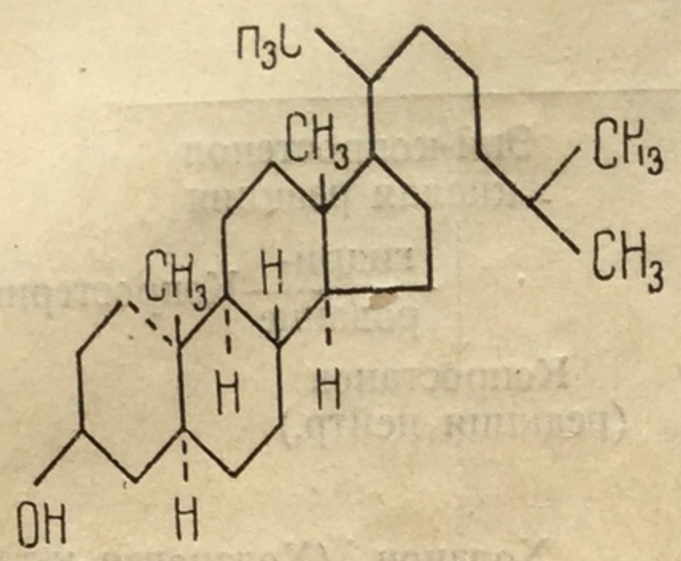
Приведенный гипотетический путь еще не доказан. Нет ука-

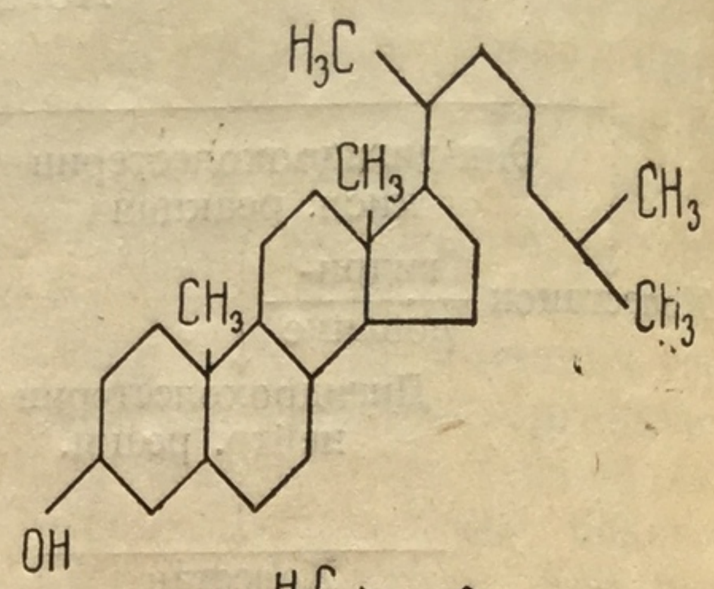


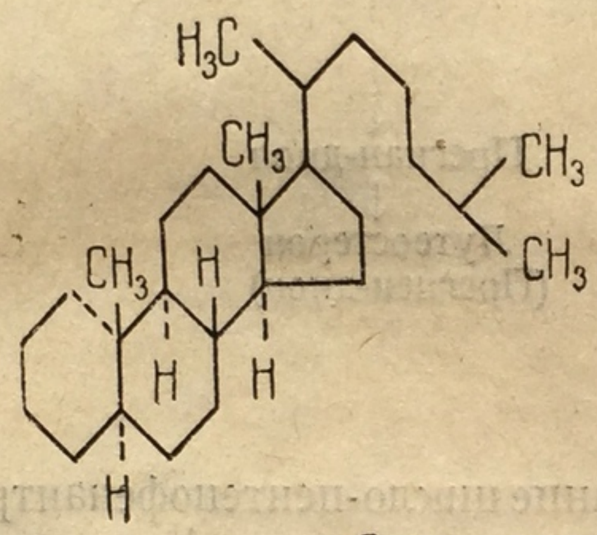
заний также и на то, чтобы образование цикло-пентенофенантрена имело место в организме. Но если вспомнить, что фолликулярный гормон является могучим химическим фактором роста, в ничтожнейших дозах вызывая огромный рост слизистой матки, а с другой стороны, что целый ряд выделенных синтетическим путем, вызывающих неорганизованный рост (рак) веществ типа цикло-пентенофенантрена дает «феномен течки», приведенная мною выше схема имеет все основания быть вероятной и, вполне возможно, она послужит в дальнейшем ключом к разработке проблемы химических факторов роста в организме.

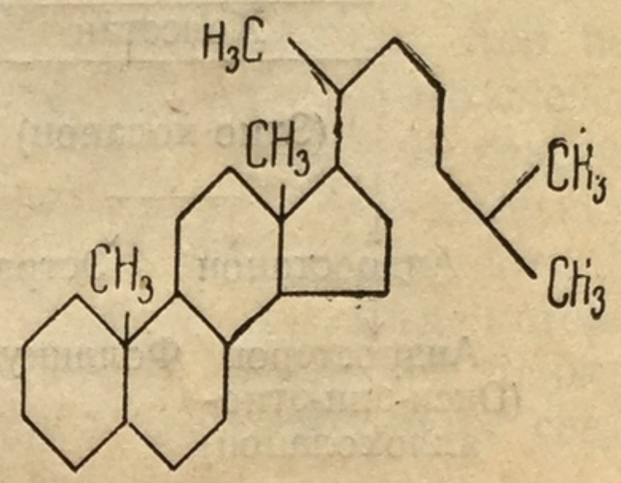
Пути образования гормона желтого тела в организме имеют наибольшие шансы на вероятность в представлении, которое дает нижеследующая схема этого процесса. Все участвующие в последней вещества выделены из организма, следовательно их образование в нем бесспорно, а потому протекание синтеза гормона, повидимому, может быть в животном организме подчинено этой схеме.

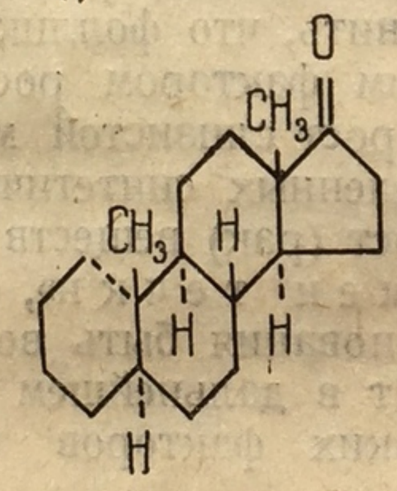
Резюмируя, я считаю необходимым, оговорить приведенные схемы как чисто условное обобщение, представляющее первую попытку систематизировать и вложить хотя бы в общие рамки тот необычайно обширный материал фактов, который накопился за последнее десятилетие по химии гормонов и животных стеринов и который до сих пор никак не укладывался ни в какую биохимическую схему. Разбор возможных путей образования гормонов пола в организме показал наглядно не только их тесную и взаимную связь с животными стеринами — прежде всего

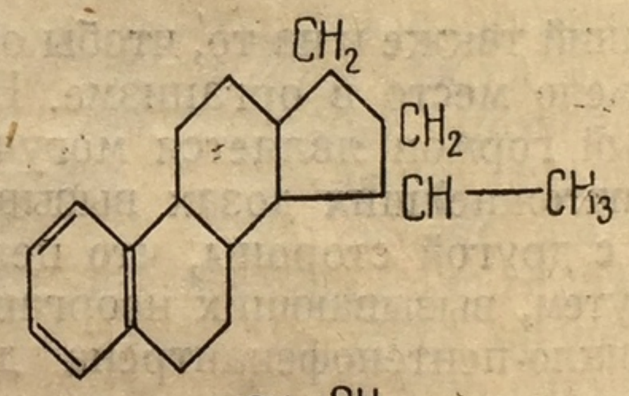


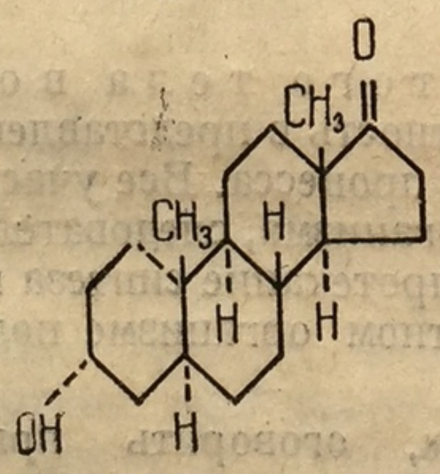












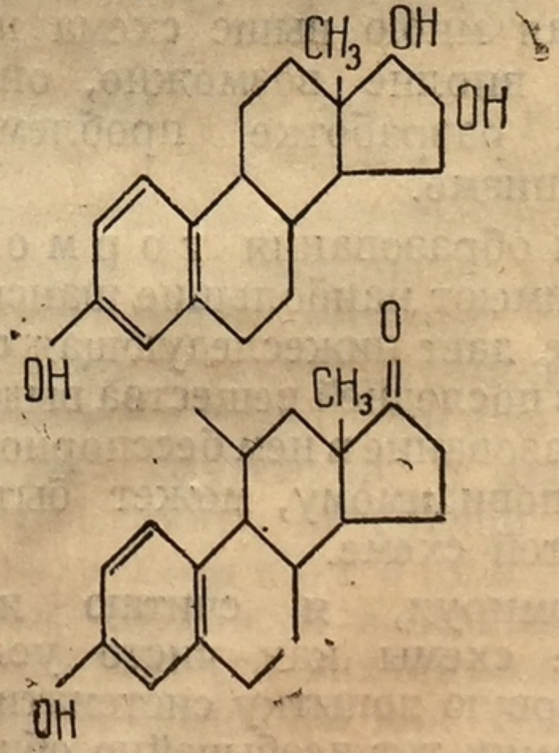
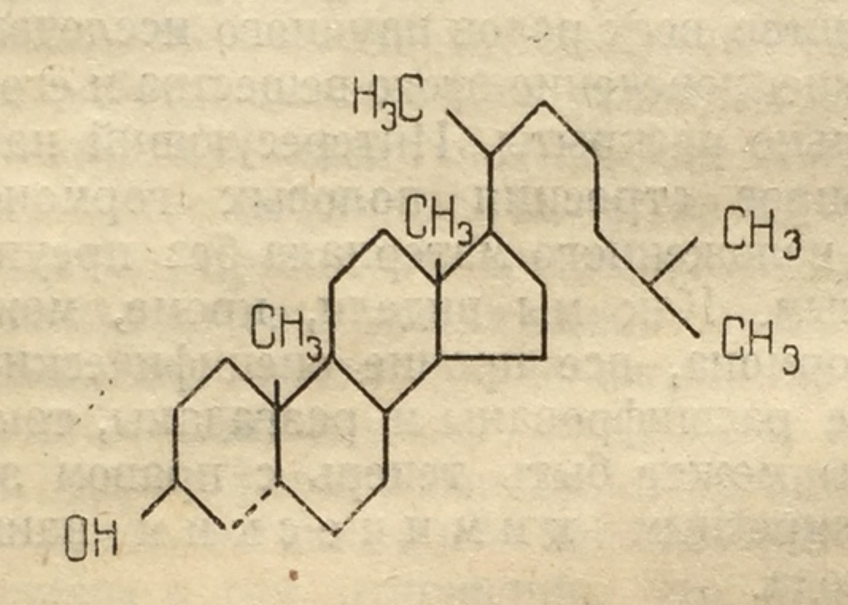


Схема возможного образования тестикулостерона в организме

Схема XXXVI-а.

холестерином и его производными (желчные кислоты), но может также стимулировать в определенном направлении новых исканий мысль химика-органика и биохимика, работающего или интересующегося проблемами химии стеринов в широком смысле слова.



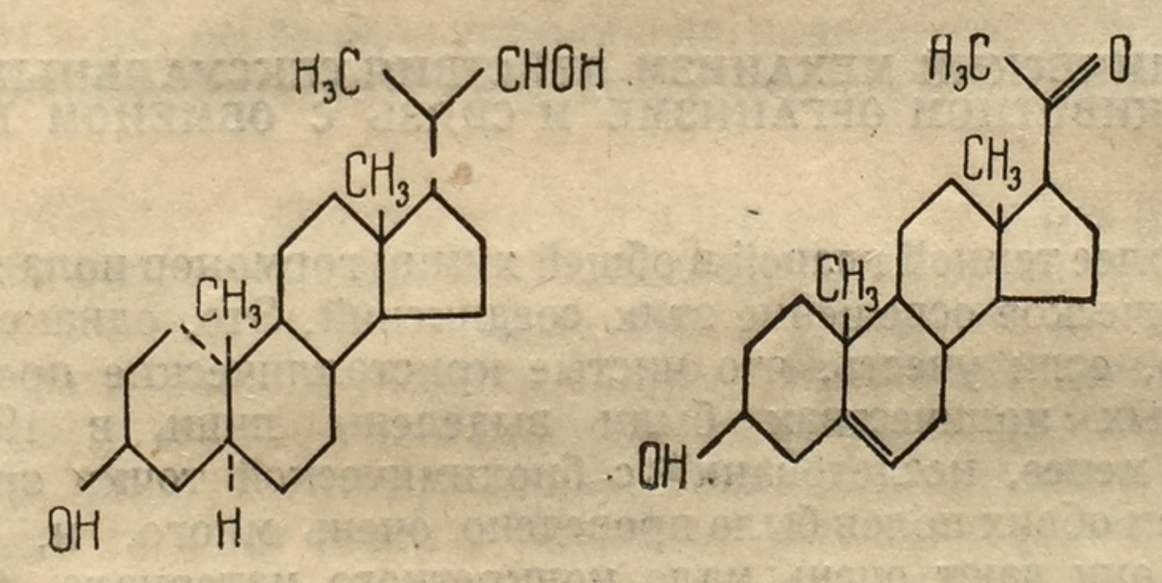


Схема возможного образования лутеостерона в организме.

Наконец, важным обстоятельством во всем вопросе является уже неоднократно отмечавшийся факт необычайно тесной связи сексуальных гормонов, являющихся по своему физиологическому эффекту химическими стимуляторами определенно направленного роста, с веществами канцерогенными, т. е. химическими факторами роста злокачественного. Отсюда без преувеличения можно сказать, что проблема химии половых гормонов перерастает в центральную проблему жизни — проблему роста.

Что же касается общего, объединяющего все эти вещества родоначальника — холестерина, то химия этого соединения, связанного генетически с половыми гормонами, с канцерогенными веществами каменноугольных смол, с нефтью и битумами, с желчными кислотами, с витаминами и, наконец, сердечными ядами — генинами, становится в настоящее время столь актуальной и столь интересной не только для химика-органика, но и биохимика, физика, технолога, врача и биолога, что надо думать, недалеко то время, когда объединенными усилиями специалистов всех родов научного исследования загадки, окутывающие еще поведение этого вещества и его превращения, будут окончательно раскрыты. Интересующий нас в предлагаемой работе вопрос строения половых гормонов можно на основании уже изложенного материала без преувеличения считать разрешенным. Как мы видели, кроме, может быть, фолликулярного гормона, все прочие специфические сексуальные гормоны вполне расшифрованы и разгаданы, так что само название «гормон» может быть теперь с правом заменено более твердым и конкретным химическим наименованием и изъято из обихода.

БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ И СВЯЗЬ С ОБМЕНОМ ВЕЩЕСТВ

Наиболее темной главой в общей химии гормонов пола является биохимическое освещение этих соединений. Это, однако, вполне понятно, если учесть, что чистые кристаллические продукты в доступных количествах были выделены лишь в 1934/35 г. Тем не менее, исследований с биохимической точки зрения по гормонам обоих полов было проведено очень много, и, к сожалению, они дают очень мало конкретного материала. Я постараюсь резюмировать данные наиболее важных работ, посвященных этому вопросу.

В отношении мужского полового гормона, помимо изложенных выше физиологических исследований, чисто биохимическое изучение механизма его действия не привело ни к каким результатам.

Мак Кулаг (Mc Cullagh), Птачек и Мальчинский (Ptaszek-Malczynski) доказали присутсвие гормона в крови и в кале. Это указывает на то, что образующийся в яичках гормон, поступая в кровь, всасывается в кишечник и следовательно может выводиться не только через почки. Если эти опыты говорят о путях выведения гормона, то о механизме его действия они не дают никакой возможности судить.

Данные по обмену веществ после кастрации в общем столь разноречивы, что здесь необходимы не только основательные повторные работы, но и систематическое изучение влияния дачи чистого кристаллического гормона как на базальный обмен, так и на все виды общего обмена веществ. Липоидный характер гормона, естественно, делает наиболее интересными исследования жирового, липоидного и углеводного обменов, тем более, что витамины и полноценная пища являются одним из доминирующих факторов в развитии и нормальной функции яичек, спермиогенеза, и, следовательно, в выработке сексуального гормона. Но во всех подобных работах важнейшим условием их убедительности должна быть такая постановка опытов, где наблюдаемые изменения в функции или составе живого вещества можно было бы с полной достоверностью приписать специфическому действию гормона. Как раз этим недостатком страдают многочисленные исследования по биохимии крови при эндокринной недостаточности яичек. Найденная гипокальцемия [Мирвиш и Бозман (Mirvish—Bosman)], увеличение в выведении организмом креатинина (Шрайр и Цваренштейн—Schrire-Zwarenstein) недостаточно убедительны в том отношении, что они не дают оснований в смысле того, следует ли эти изменения приписать именно кастрации. Более обоснованными являются исследования Блхера (Blacher), Блюмеля (Blümel), Мольтени (Molteni) и др., которыми установлено падение числа эритроцитов и гемоглобина в крови у животных с недостаточностью функции яичек.

Что касается фолликулярного гормона, то хотя количество биохимических исследований здесь велико, значительно больше, чем в предыдущем случае, тем не менее они не дают возможности подойти ближе к механизму действия гормона и связи его с обменом веществ по тем же выше изложенным, причинам. Многими авторами изучались биохимические факторы, влияющие на цикл течки у животных помимо гормона.

Минеральные соли в общем не оказывают никакого влияния, вводятся ли они per os или парэнтерально причем в дозах, ведущих к несомненным нарушениям кислотно-щелочного равновесия и осмотической стойкости тканей, или в минимальных концентрациях. Описанный Скиннером (Skinner) эффект от дачи солей марганца на протекание течки не подтвердился [Орэнт и Мак Коллум (Orent-Mc Collum)]. С другой стороны, соли таллия, даваемые животным даже после сильной течки, вызванной фолликулярным гормоном, парализуют ее при их применении в очень малых концентрациях. То же показывают никотин и атропин. Эти вещества могут иметь значение в клинике при случайных чрезмерных дозировках фолликулярного гормона для быстрого подавления его физиологического эффекта.

Вольф (Wolfe) на большом материале смог доказать, что

ахлоридная диэта и обеднение солями организма понижают вообще частоту и правильность наступления течки у животных.

Все эти данные говорят, следовательно, об общем влиянии минерального обмена на образование фолликулярного гормона, но прямой связи с механизмом действия последнего в организме, очевидно, найти на основании приведенных опытов нельзя. Чрезвычайно большое количество работ было посвящено изучению основного обмена в зависимости от функции половых желез женщины (Горнунг, Дэвид, Фразер-Визнер, Царка, Ли, Роу, Арвей-Мейер, Вейль, Кунде и др.). Резюмируя эти исследования, можно считать в общем установленным тот факт, что фолликулярный гормон ведет к повышению обмена веществ, включая базальный обмен, усиливая таким образом процессы метаболии в организме. Прямое влияние дачи фолликулярного гормона на углеводный обмен было установлено исследованиями Роу, Рэтери (Rathery), Кахана (Cahane) и др., показавших изменение уровня сахара в крови и гликогена в печени у собак. По Лейтесу при кастрации имеются нарушения жирового обмена, однако эти опыты подлежат проверке с дачей чистого гормона. Влияние эндокринной функции яичников на азотистый обмен оспаривается многими авторами (Кауфман-Мюльбок и др.). Весьма интересными представляются работы, которые показали наличие несомненной зависимости между «обменом холестерина», или, вернее, картиной холестерина крови, при, даче фолликулярного гормона. При инъекциях стандартизированных чистых растворов препаратов кристаллического фолликулярного гормона было установлено увеличение холестерина в крови, причем дело идет о гиперхолестеринемии, преимущественно за счет свободной фракции холестерина крови [Мори и Рейсс (Mori — Reiss), Неймарк (Neumark), Вара—Лопец и Торбек (Vara—Lopez—Thorbeck), Мюльбок, Кауфман, Кахан и др.). Эти опыты особенно важны, если учесть, что фолликулярный гормон синтезируется в организме при участии холестерина, во всяком случае из его производных.

Изучение сыворотки крови в отношении ее составных частей при даче фолликулярного гормона представляет пеструю картину результатов, которые нередко противоречат друг другу. Картина кальция крови изучалась очень многими исследователями из которых я назову авторов, работы которых были наиболее безупречными — Бокельман (Bockelmann), Рейсс-Маркс (Reiss-Marx), Пархон и Вернер (Parhon-Werner). Всем им удалось установить гипокальцемию, постоянное падение кальция крови при введении гормона. Также изменяется соотношение калий: кальций крови и удлиняется время, потребное для свертывания крови [Друкрей (Druckrey)].

Определенная связь между фолликулярным гормоном и витаминами была установлена многими авторами и некоторыми была рекомендована как основа для биологической пробы на витамины [Эванс (Evans), Коуард (Coward), Гольвег-Дорн (Hohlweg-Dohrn), Молль (Moll), (Клуссман-Симола), (Klussmann-Simola), (Штэнбок Steenbock), Эйлер), Euler), Адлер-Больтинг (Adler-Bolting) и др].

При недостаточности витамина А наступает «кольпокератоз»—ороговение влагалищной части половых органов. Каротин такого эффекта не оказывает. Очевидно, дело заключается в близкой связи между гормоном, вырабатываемым фолликулами, и витамином А, который, как известно, представляет собой витамин роста и близко стоит к липоидам. Кристаллический препарат витамина D (Calciferol) ускоряет, протекание течки у крыс. Очень подробному изучению подверглась возможная связь между витамином Е так называемым фактором антистерилизации, и фолликулярным гормоном [Фогт (Vogt,) Сюр (Sure,) Эванси Бишоп (Evans — Bishop), Бичегли (Bisceglie) и др.] Оба вещества липоидной природы, и оказалось, что возможно заменить витамин Е фолликулярным гормоном при авитаминозе Е. Обратно, дача витамина Е вызывает течку и специфический эффект фолликулярного гормона у кастрированных животных. Повидимому оба вещества идентичны, но окончательное решение этого вопроса должны принести соответствующим образом поставленные химические исследования витамина Е. С растворимыми в воде витаминами В и С установить прямых связей не удалось. Повидимому, авитаминоз «В» и «С» все же может отразиться на протекании течки у животных (Рейс, Накамура, Паркес и др.).

Обширные исследования Зибке (Siebke) касались содержания фолликулярного гормона в крови, моче и кале у женщин в различные периоды полового цикла и позволили выработать хороший метод определения количества гормона в крови. Этими же вопросами занимались также Курцрок (Kurzrok), Форд и Мюллер (Ford — Müller), Ларош (Laroche), Вагнер (Wagner) и др. Все эти работы касались скорее клиники фолликулярного гормона, представляя попытку дать биохимические основы для терапии гормонами.

В заключение, несколько замечаний по поводу исследований в биохимическом разрезе гормона желтого тела. Небольшое количество таких работ касалось преимущественно действия гормона желтого тела на обмен веществ [Смит-Ваткинс (Smith-Wathkins), Кнелль (Knell) и др.]. Установить какого-либо специфическое действия при этом не удалось, точно так же как не удалось установить и прямой связи с картиной холестерина крови (Кнелль). Однако недавно лишь законченные работы Н. И. Тавастшерна, проведенные

на обезьянах, показали, что холестерин крови резко увеличивается с введением растворов чистого, синтетического, стандартизированного гормона желтого тела, показывая картину гиперхолестеринемии при одновременном падении сахара крови. Эти результаты указывают на связь лутеостерона с холестерином, так же как это имеет место для фолликулярного гормона.

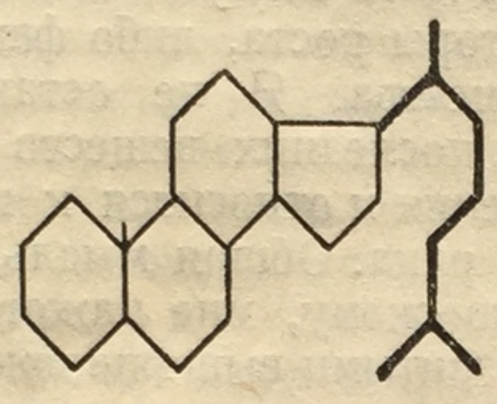
Таким образом, приходится притти к заключению, что по существу большинство биохимических работ не дали ни возможности подойти к механизму действия гормонов пола, ни даже ясной картины взаимосвязи, которая существует в организме между действием этих веществ и динамикой обмена. Разбор результатов приведенных работ дает отдельные отрывочные факты, которые едва ли возможно объединить,— столь различными были методика, и поставленные авторами задачи и примененные объекты исследования. Тем не менее, некоторые из добытых фактов представляется интересным сопоставить с той точкой зрения на механизм действия сексуальных гормонов и биохимическую их связь с обменом веществ, которую я позволю себе здесь изложить.

Физиологический эффект сексуальных гормонов, как это видно было при разборе эндокринной функции половых желез, сводится по существу к специфическому стимулированию гуморальным путем роста определенных клеток и тканей в организме. Несомненно, что этот же фактор действует раздражающим образом на сексуальный центр мозга, определяя также и общее психическое состояние, обусловливая половое влечение. Также несомненно его общее, повышающее тонус и, следовательно, общий обмен веществ действие.

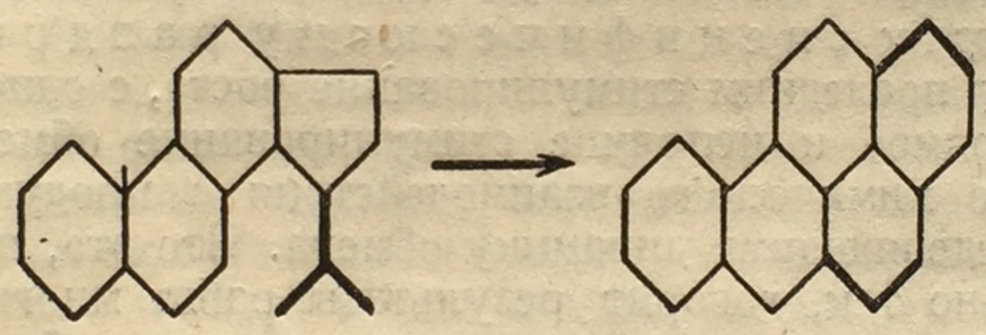
С биохимической точки зрения сексуальные гормоны надо отнести к специфическим химическим раздражителям, к могучим химическим факторам организованного роста.

В самом деле мы видели, что наиболее достоверно установленной является непосредственная, прямая связь между холестерином, витаминами роста (витаминами A и D), веществами, необходимыми для роста — минеральными солями, в первую очередь кальцием, и сексуальными гормонами. Не вдаваясь в детали этой связи — из них едва ли еще можно было бы получить ясную картину, в чем конкретно заключается роль этих веществ в механизме действия гормонов пола, — но отмечая самый факт, что как раз эти вещества наиболее ясно показывают изменения при воздействии на организм гормонов пола, можно принять примат фактора роста в механизме действия гормонов пола на организм. С другой стороны, нельзя забывать другого замечательного факта, что вещества, стимулирующие злокачественный рост — так называемые «канцерогенные смолы» (бензпирены, бензантрацены и пр.), вовсе не являющиеся гормонами и показывающие всего лишь сходный кольчатый скелет,

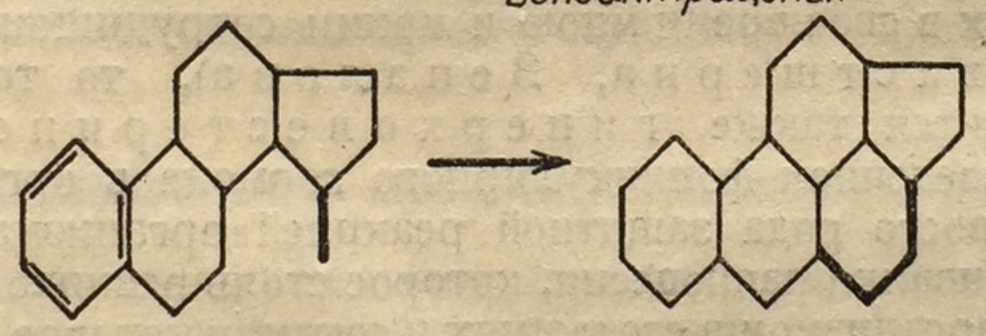
дают тот же биологический феномен «течки» у животных, что и фолликулярный гормон. Таким образом, в принципе «биохимическая разница» между карциногенными веществами и сексуальными гормонами заключается только в направленности стимула роста: первые стимулируют неорганизованный рост клеток и тканей, придавая ему в конечном итоге злокачественный характер, в то время как вторые определяют организованный и специфический рост только настроенных на химический стимул гормона клеток и тканей, именно тех, которые, как известно, образуют морфологически первичные и вторичные половые признаки. На предлагаемой схеме я

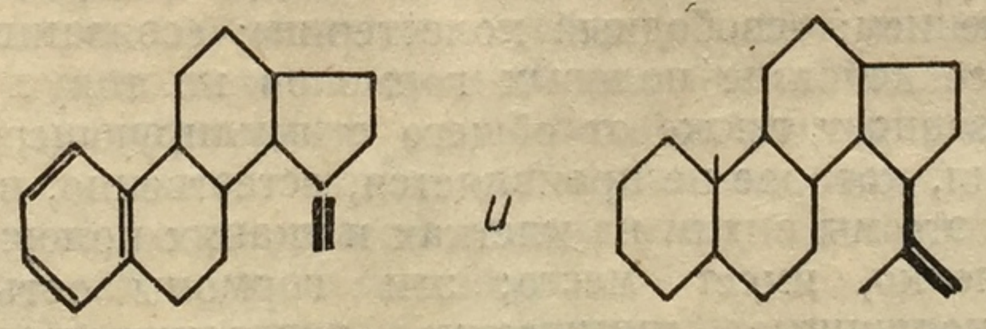


Бензпирен



циклопентены (5.6) и бензантрацены.





хочу показать возможность образования из холестерина одновременно и гормонов пола, и бластогенных (карциногенных) веществ.

Насколько эта схема в принципе справедлива для организма, покажут результаты исследований, начатых мною и моими сотрудниками в этом направлении. Здесь я преследовал цель набросать только общие положения, наметить принципиальную точку зрения на химический и биохимический механизм действия и значение для биологии сексуальных гормонов.

Образование сексуальных гормонов в организме есть по существу процесс определенных химических превращений, своего рода распада холестерина в нем; образующиеся при этом продукты являются химическими стимуляторами роста, и в зависимости от того, на какой фазе этот процесс остановится, образуются в превалирующем количестве либо сексуальные гормоны, представляющие более слабые факторы роста, либо факторы более сильные — карциногенные вещества. Я не останавливаюсь здесь подробнее на образовании последних веществ — это составляет предмет особого рассмотрения и относится к проблеме злокачественного роста, проблеме рака. Общая мысль, однако, вложенная в предложенную мною схему, мне кажется достаточно ясной, особенно в связи с развитыми выше положениями о преимущественном значении гормонов пола как химических факторов роста.

Биохимический механизм действия сексуальных гормонов сводится тогда к специфическому раздражению, понимая под последним стимулирование роста, с одной стороны, а также прямое и непрямое стимулирование обмена веществ путем чисто химического взаимодействия с продуктами организма, определяющими динамику обмена. Что это, повидимому, действительно так, говорят результаты работ многих исследователей, устанавливающие усиление основного обмена и связь с витаминами роста.

Если исходить из биохимических исследований по холестерину, проведенных в свое время мною и моими сотрудниками (Ремезов, Тавастшерна, Зепалова), то тогда понятной становится также гиперхолестеринемия, вызываемая введением фолликулярного гормона в организм. Она является своего рода защитной реакцией организма и служит для выравнивания равновесия, которое столь ревниво охраняется животным организмом в его тканях и соках, и которое определяется соотношением: «свободный холестерин»: «связанный холестерин». Общее действие половых гормонов на тонус организма, очевидно, зависит также от общего стимулирующего рост клеток действия, которое не проявляется, естественно, в таких размерах, как это мы видим на клетках и тканях половых органов, но, несомненно, имеет место; эти гормоны есть, следовательно, подлинные химические раздражители. В этом смысле получает новое освещение вопрос о том, возможно ли «омолаживание» помощью гормонов пола и насколько такое воздействие вредоносно для организма вообще.

На основании изложенного, оставляя в стороне вопрос о смысле вообще понятия «омолаживание», мне кажется, что злоупотребление, так же как и увлечение в клинике методами лечения и тонизирования организма гормонами или гормоноподобными веществами, точно так же как и вообще «неспецифическими раздражителями», хотя бы и белковой природы (лизаты), имеет ту основную опасность, что оно угрожает в конечном итоге возможностью появления в организме неорганизованного роста. Хотя проблема рака еще далеко не ясна, но на современном этапе знаний о ней мы можем с непреложностью считать, что в генезе этого общего заболевания лежит нарушение определенного химического механизма, регулирующего возможно путем образования особых веществ, рост клеток и тканей организма вообще. Поэтому злоупотребление веществами, являющимися химическими факторами роста или вообще какими бы то ни было раздражителями роста, мне кажется весьма рискованным. Особенно все изложенное относится к дозировке гормонов пола в клинике, а также к лечению неочищенными препаратами, вплоть до лечения мочей беременных, где, как мы видели, помимо гормонов имеются еще такие химические вещества, физиологическое действие которых далеко не изучено.

Итак, ближайшей задачей биохимического изучения гормонов пола, должно быть решение вопросов о путях образования этих веществ в организме в связи с их характеристикой как химических факторов роста. В этом отношении много даст тщательное физиологическое и биохимическое изучение дериватов гормонов, их спутников и промежуточных продуктов, выделяемых в моче и кале, а также попытка интерпретации результатов подобных опытов в разрезе изложенных выше взглядов. Такой же подход имел может быть большой смысл и при исследовании обмена веществ как при эндокринной недостаточности половых желез, так и при прямом применении чистых половых гормонов.

ВОПРОСЫ ХИМИЧЕСКОЙ НОМЕНКЛАТУРЫ ГОРМОНОВ ПОЛА

Перед тем как закончить главу, посвященную химии сексуальных гормонов, я считал целесообразным затронуть еще раз вопрос о номенклатуре этих соединений. Как было видно из предыдущего, в этом отношении до сих пор существуют необычайный хаос и путаница. В ряде сводных таблиц я привел возможные сопоставления, чтобы помочь исследователю, мало знакомому со всей бесчисленной литературой по химии гормонов пола, разобраться в этой области.

При обилии предложенных наименований и систем номенклатуры сексуальных гормонов, казалось бы, совершенно излишним вносить новые предложения. Однако, я хочу позволить себе это сделать по следующим соображениям:

Наименование «гормоны», введенное в биохимию, было по существу общим собирательным именем для веществ, не только химическая природа которых была неизвестна, но самое их получение как вполне однородных химических индивидуумов было в то время почти недосягаемым идеалом. В настоящее время это название, точно так же как для других групп веществ, например «витаминов», «ферментов», пожалуй и устарело и неудобно. Для сексуальных гормонов это особенно бросается в глаза, так как в сущности их место в биохимии теперь окончательно и достоверно найдено. Они должны быть отнесены к «стеринам» и в курсе современной биохимии самым целесообразным следует считать помещение их в главу производных животных стеринов. Соответственно и название «гормоны пола» должно отпасть, их специфическая функция явится предметом обсуждения их действия как определенных химических соединений холестеринового ряда. Это отнюдь не умаляет значения учения о внутренней секреции вообще, скорее наоборот, ибо речь идет лишь о точной характеристике тех химических продуктов, которые являются инкретами эндокринных желез.

С точки зрения общей химической классификации номенклатура сексуальных гормонов должна удовлетворять двум требованиям: заключать некоторый общий признак, характеризующий их химическую природу, и затем отвечать биохимическим требованиям, позволяя уже по названию вещества составить представление об отношении его к определенным органам или сокам организма. Для примера я приведу такое наименование, как «желчные кислоты», где имеется общий химический признак кислоты и одновременно морфологический — указание на их образование в печени, присутствие в желчи. Дальнейшая детализация ведет к специфическим только химическим названиям (билиановые, этио-холановые, лито-билиановые, холоидановые, билоидановые и т. д.). Большинство предложенных для сексуальных гормонов номенклатур совершенно не отвечает указанным признакам. В самом деле, для женских сексуальных гормонов номенклатура или чисто химическая (Бутенандт — прегнаны, прегнендион; английская школа — эстрин, эстран), или только морфологическая (Жирар — фолликулин, лутеин). Для мужского сексуального гормона дело обстоит несколько лучше (Ружика — (3)-эпи-окси-этио-аллохоланон; Бутенандт — тестикулярный гормон). Но при всем этом превалирует по сути дела другой своеобразный признак: авторы считают нужным дать свое название и тогда этим названием пользуются в дальнейшем все исследователи в данной стране. Достаточно привести хотя бы для примера «фолликулин» и «фолликулярный гормон» — оба названия по существу идентичны, не вносят ничего нового, но первое применяется только во Франции и смежных странах (Бельгия, Чехо-Словакия), так как

было предложено Жираром, второе применяется в Германии, будучи выдвинуто Бутенандтом. Мне кажется, что при поисках номенклатуры необходимо исходить только из интересов общей научной целесообразности и если какое-либо наименование действительно является вполне удовлетворительным, то оно должно быть принято всеми исследователями, являясь вкладом, как бы последний и ни был мал, в общее дело прогресса науки.

Таким интересам может отвечать приводимое ниже общее наименование для сексуальных гормонов —

«Стероны» (Sterone).

Все специфические гормоны пола, как мы видели, являются производными стеринов, а потому название «стероны» определяет их место в ряду производных этих соединений. Соответственно морфологический признак по месту их нахождения и образования позволяет вывести следующие названия:

Женские сексуальные гормоны:

1. Фолликулярный гормон — фолликулостерон (Folliculosteron)
2. Гормон желтого тела — лутеостерон (Luteosteron)

Мужские сексуальные гормоны:

1. Тестикулярный гормон — тестикулостерон (Testiculosteron).

Что касается специальной химической номенклатуры этих соединений, связанной, естественно, с общей химической номенклатурой того класса веществ, к которым они относятся, то здесь дело идет о приоритете авторов, впервые раскрывших химическую природу этих тел, и потому таковые должны быть приняты всеми исследователями в своем оригинальном начертании, поскольку они не противоречат общей химической номенклатуре и относятся к твердо установленным веществам. Для синтетических препаратов лутеостерона остается Δ^4— прегнен-ди-он (Бутенандт,) тестикулостерона —3. эпи-окси-этио-аллохоланон (Ружика), в то время как название «эстрин» и вся номенклатура, предложенная английскими исследователями, исходя из еще не вполне достоверного «эстрана», по моему мнению особых прав на существование не имеет, разве только если условиться впредь вообще в биохимии называть вещество и его свойство одинаковым словом да еще пользуясь не собственным, а иностранным («эстрин» от «Oestrum»— течка). Но самый принцип подобной номенклатуры мне кажется мало удачным, ибо он привел бы к совершенно новым филологически малограмотным словам вроде „течкин“—«вызывающий течку».

Таблица 9

Наименование	Брутто-формула	Характеристические химич. группы	Точка плавления	Оптическое вращение $[\alpha]_D$	Максимум селективной абсорбц. света (у-фиолет)	Исходный материал получения	Физиологич. активн.: грамм в соотв. единицах
Фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	250—251° (корр.)	+156° (хлор)	280—285 mμ	Моча беремен.	8—40 милл. МЕ
β-фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	257°	+166° (хлор.)	280—285 mμ	„ „	1—2 „ МЕ
δ-фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	209°	+46° (хлороф.)	280—285 mμ	„ „	4—5 „ МЕ
Фолликулостерон гидрат	$C_{18}H_{21}(OH)_3$	2 алког. OH и I фенол OH-группы	280° (не корр.)	+30° (алког.)	280—285 mμ	„ „	1,5 мил. до 200 000 МЕ
Дигидро-фолликулостерон	$C_{18}H_{22}(OH)_2$	2 алког. и CO-группы	168—170° (не корр.)	+144° (хлороф.)	280—285 mμ	„ „	До 120 милл. МЕ
Лутеостерон	$C_{21}H_{30}O_2$	2 CO-группы	α-форма = 128,5 β—форма=121°	191° (алког.)	240 mμ	Экстракты	1 350 КЕ
Дигидро-лутеостерон	$C_{21}H_{32}O_2$	CO-и OH-группы	159° (не корр.)	+89° (алког.)	—	То же	Не активен
Прегнан-диол	$C_{21}H_{36}O_2$	2 OH-группы	234—235°	+35° (бензол.)	—	Моча беремен.	Физиологически неактивные спутники лутеостерона
Алло-прегнан-диол	$C_{21}H_{36}O_2$	trans-OH-группы	248,5°	+16° (бензол)	—	„ „	
Оксикетон-алло-прегнан-ол-он (20)	$C_{21}H_{34}O_2$	trans-OH-группы	194°	—	—	„ „	
Оксикетон прегнан-ол-он (3)	$C_{21}H_{34}O_2$	cis-OH-группы	152°	—	—	„ „	
Тестикулостерон	$C_{19}H_{30}O_2$	CO-и OH-группы	181° (корр.)	+94° (алког.)	240—245 mμ	Моча мужчин	10 000 НЕ
Дегидро-тестикулостерон	$C_{19}H_{31}O_2$	OH-CO-гр.	219°	—	—	„ „	30 000 НЕ
Кето-тестикулостерон	$C_{19}H_{28}O$	CO-группа	121°	—	—	„ „	Слабо активен в дозах от 3 мг.
„Тестостерон“ (Тестикулостеноль)	$C_{19}H_{28}O_2$	CO и OH-группы	151°	+104 (алког.)	—	„ „	200 000 НЕ

Наименование	Брутто-формула	Характеристические химич. группы	Точка плавления	Оптическое вращение $[\alpha]_D$	Максимум селективной абсорбции (у-фи
Фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	250—251° (корр.)	+156° (хлор)	230—2
β-фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	257°	+166° (хлор.)	280—28
δ-фолликулостерон	$C_{17}H_{21}(OH)(CO)$	CO и OH-группы	209°	+46° (хлороф.)	280—28
Фолликулостерон гидрат	$C_{18}H_{21}(OH)_3$	2 алког. OH и 1 фенол OH-группы	280° (не корр.)	+30° (алког.)	280—28
Дигидро-фолликулостерон	$C_{18}H_{22}(OH)_2$	2 алког. и CO-группы	168—170° (не корр.)	+144° (хлороф.)	280—28
Лутеостерон	$C_{21}H_{30}O_2$	2 CO-группы	α-форма = 128,5 β—форма=121°	191° (алког.)	240
Дигидро-лутеостерон	$C_{21}H_{32}O_2$	CO-и OH-группы	159° (не корр.)	+89° (алког.)	
Прегнан-диол	$C_{21}H_{36}O_2$	2 OH-группы	234—235°	+35° (бензол.)	
Алло-прегнан-диол	$C_{21}H_{36}O_2$	trans-OH-группы	248,5°	+16° (бензол)	
Оксикетон-алло-прегнан-ол-он (20)	$C_{21}H_{34}O_2$	trans-OH-группы	194°	—	
Оксикетон прегнан-ол-он (3)	$C_{21}H_{34}O_2$	cis-OH-группы	152°	—	
Тестикулостерон	$C_{19}H_{30}O_2$	CO-и OH-группы	181° (корр.)	+94° (алког.)	
Дегидро-тестикулостерон	$C_{19}H_{31}O_2$	OH-CO-гр.	219°	—	240—2
Кето-тестикулостерон	$C_{19}H_{28}O$	CO-группа	121°	—	
„Тестостерон“ (Тестикулостеноль)	$C_{19}H_{28}O_2$	CO и OH-группы	151°	+104 (алког.)	

Таблица 9

Оптическое вращение $[\alpha]_D$	Максимум селективной абсорбц. света (у-фиолет)	Исходный материал получения	Физиологич. активн.: грамм в соотв. единицах
+156° (хлор)	280—285 mμ	Моча беремен.	8—40 милл. МЕ
+166° (хлор.)	280—285 mμ	„ „	1—2 „ МЕ
+46° (хлороф.)	280—285 mμ	„ „	4—5 „ МЕ
+30° (алког.)	280—285 mμ	„ „	1,5 мил. до 200 000 МЕ
+144° (хлороф.)	280—285 mμ	„ „	До 120 милл. МЕ
191° (алког.)	240 mμ	Экстракты	1 350 КЕ
+89° (алког.)	—	То же	Не активен
+35° (бензол.)	—	Моча беремен.	Физиологически неактивные спутники лутеостерона
+16° (бензол)	—	„ „	
—	—	„ „	
—	—	„ „	
+94° (алког.)	240—245 mμ	Моча мужчин	10 000 НЕ
—	—	„ „	30 000 НЕ
—	—	„ „	Слабо активен в дозах от 3 мг.
+104 (алког.)	—	„ „	200 000 НЕ

Заканчивая на этом разбор состояния современной структурной и общей химии стеронов, я привел в заключение сводную таблицу констант и формул разобранных здесь соединений (табл. 9), которая может позволить быстро ориентироваться в физико-химических свойствах и характеристике интересующего препарата. Важность точного химического идентифицирования выделяемых продуктов для отнесения их к классу стеронов уже неоднократно подчеркивалась, ибо, несмотря на физиологический эффект, новое выделенное вещество иногда оказывалось или загрязненным препаратом, плохо охарактеризованным химически, или смесью неопределенного состава, содержащей в виде примесей стерон. Работа в области химии стеронов имеет только тогда смысл, если новые открываемые вещества имеют те даты, необходимые прежде всего для химической их характеристики, которые приведены в нижеследующей таблице. Она тогда обещает исследователю многие перспективы, ибо помимо уже известных стеронов есть все основания ожидать еще новых, самостоятельных, прежде всего мужских стеронов.

ГЛАВА ТРЕТЬЯ

ПРЕПАРАТИВНАЯ ХИМИЯ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

Выделение стеронов в кристаллическом химически однородном состоянии представляет собой задачу, при разрешении которой исследователю необходимо помимо специальных знаний по химии этих соединений иметь общее представление как о теоретических, так и о практических основах препаративной химии стеринов вообще. Необычайная трудность работы с последними в препаративном отношении зависит не столько от недостатков метода, сколько от недостаточности наших теоретических знаний о поведении сложной молекулы этих веществ. Так например такой основной процесс, как окисление стеринов, имеет ряд чисто эмпирических правил, так же как и более простые процедуры (экстракция, бромирование, ацетилирование и т. д.); все они не могут быть подчинены строгим теоретическим обоснованиям, требуя в каждом случае учета чисто эмпирического опыта работы с этими соединениями. Выходы результирующих продуктов реакции, есть в большинстве случаев смолы, кристаллизация которых представляет большие, иногда почти вовсе непреодолимые трудности.

В процессе препаративных работ по химии стеринов и стеронов выработался поэтому, естественно, ряд *общих приемов*, общих чисто эмпирических предпосылок для подхода к выделению того или иного вещества из ряда стеринов. Последние редко можно встретить в систематическом печатном изложении, несмотря на их большую важность, особенно для исследователя, не имеющего опыта в области препаративной химии стеринов или липидов вообще. На основании собственного опыта по химии стеринов и по химии сексуальных гормонов (стеронов) я считал целесообразным в предлагаемом исследовании остановиться подробнее на указанных приемах препаративной методики. При этом я позволю себе предпослать несколько общих методических замечаний, которые будут касаться теоретической и практической стороны препаративных приемов по выделению и синтезу стеронов. Как ни странным это покажется, я отмечу также некоторые, на первый взгляд общепринятые

аппаратурные моменты в работе; однако несоблюдение именно *определенных* аппаратурных приспособлений в ряде случаев приводит к неудачам в работе, особенно при выделении естественных и иногда синтетических стеронов.

ПУТИ ВЫДЕЛЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ (СТЕРОНОВ) В КРИСТАЛЛИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ

1. Общие методические замечания

Огромное количество методов, предложенных для выделения кристаллических стеронов, по существу можно разделить на две принципиально отличных группы, каждая из которых покоится на одном общем принципе работы: в одних случаях дело заключается в очищении стерона от загрязняющих его примесей помощью «метода отмучивания» (Entmischungsverfahren), в других — основным принципом работы является «метод селективной адсорпции с последующей элюцией», введенный с легкой руки Вилльштэтера в энзимологию. Я не буду здесь останавливаться на критике того или другого способа; оба принципа работы имеют свои достоинства и недостатки, и оба себя оправдали, позволив выделить кристаллические стероны. Однако не во всех случаях эти методы применимы. Если «метод отмучивания» пригоден там, где можно рассчитывать на значительные разницы в величинах растворимости в той или иной среде искомого вещества и его примесей, то «метод селективной адсорпции» требует еще более специфических условий — наличия «обратимой адсорпции» для искомого вещества на примененном адсорбенсе.

Опыт в общем показал, что последний способ сложнее, труднее и требует иногда специальных патентованных реактивов (земля Fuller'a, пермутит, беконит и т. д.), а главное — не применим для выделения всех стеронов, в то время как «метод отмучивания», хотя тоже не легкий, тем не менее проще, более доступен в отношении реактивов и дает не только хорошие выходы вещества, но также применим для выделения всех стеронов. В результате проверки обоих путей я лично отдаю предпочтение «методу отмучивания» и поэтому при изложении способов выделения стеронов буду придерживаться тех работ, которые уже проверены, себя оправдали и которые на этом методе покоятся. Интересующиеся «методами адсорпции» могут быть отосланы к литературе, которая приведена в конце этой книги.

Останавливаясь на «методе отмучивания» подробнее, следует дать некоторые общие указания, точное соблюдение которых требует работа по этому способу. Полное отделение сексуального гормона от примесей достигается на том основании, что последний, как было сказано, обладает большей или меньшей растворимостью (по сравнению с примесями)

в примененных растворителях. Поэтому весьма важно при процессе отмучивания вести его не более и не менее того времени, которое чисто эмпирически было найдено и которого оказалось достаточным, чтобы стерон максимально перешел в раствор и, одновременно, чтобы в тот же раствор не успели начать частично переходить примеси. Несоблюдение этого принципа ведет к большим потерям искомого вещества и понижает ценность метода. То же справедливо и в отношении времени, нужного для отстаивания и разделения обеих фаз. Кроме принципа различной растворимости метод отмучивания включает еще очищение стерона, покоящееся на его поведении относительно кислотного и щелочного гидролиза, позволяя соответствующим разделением накопить стерон преимущественно в щелочной или кислой фазе. В этой стадии работы особое внимание должно быть обращено на концентрационный фактор, понимая под этим крепость щелочных или кислых растворов. Погрешность в последнем (чаще всего слишком разведенные растворы) ведет к неполноте реакции и потерям вещества. Наконец, последний этап работы — кристаллизация высоко активных фракций масел и смол, добытых в результате метода отмучивания. Этот этап наиболее труден, отнимает много времени, требует терпения и находчивости. Он обычно имеет своим заключением высоко вакуумную сублимацию. Однако с последней спешить никогда не следует, а требуется учесть следующее правило: принципиальная возможность кристаллизации результирующих в процессе очистки гормонов масел только тогда имеется, если эти масла достигли максимальной степени своей чистоты, что определяется биологической пробой на животном. Перед тем как приступить к получению кристаллизатов стеронов путем высоко вакуумной микросублимации, следует предварительно испробовать все другие пути, так как потери вещества— без преувеличения — максимальны на этом заключительном этапе выделения гормонов. Поэтому исходное масло следует попытаться предоставить самопроизвольной кристаллизации путем сгущения в вакууме и прививки кристалла данного стерона (если подобные кристаллы имеются в распоряжении исследователя). В аликвотных частях масла можно попытаться обработкой кето реактивами (семикарбазид) получить легче кристаллизующиеся семикарбазоны гормонов, из которых уже проще подойти к кристаллическому гормону. Только в случае, если эти пробы не оправдали ожиданий, приходится приступить к разгонке фракций по разной скорости их сублимации в высоком вакууме (до 0,0001 мм). Здесь важно не только хорошее качество аппаратуры, держащей вакуум в течение нескольких дней, но также постоянное очень медленное регулирование температуры (воздушная баня), где находится реторта сублима-

тора. Наконец, необходимо помнить, что большинство стеронов чувствительно к перекисям и легко окисляется в процессе обработки кислородом воздуха. Это должно быть поэтому учтено как в отношении аппаратуры, так и реактивов, которые должны быть проверены и в случае нужды очищены от следов перекисей (эфир, натронные щелочи и пр.).

В аппаратурном отношении я позволю сделать здесь несколько замечаний с целью сэкономить время исследователю, который желал бы работать в этой области. Прежде всего о вакууме. При отсутствии хорошего ртутного вакуумного насоса, дающего разрежение не менее 0,0005 мм Hg, нечего

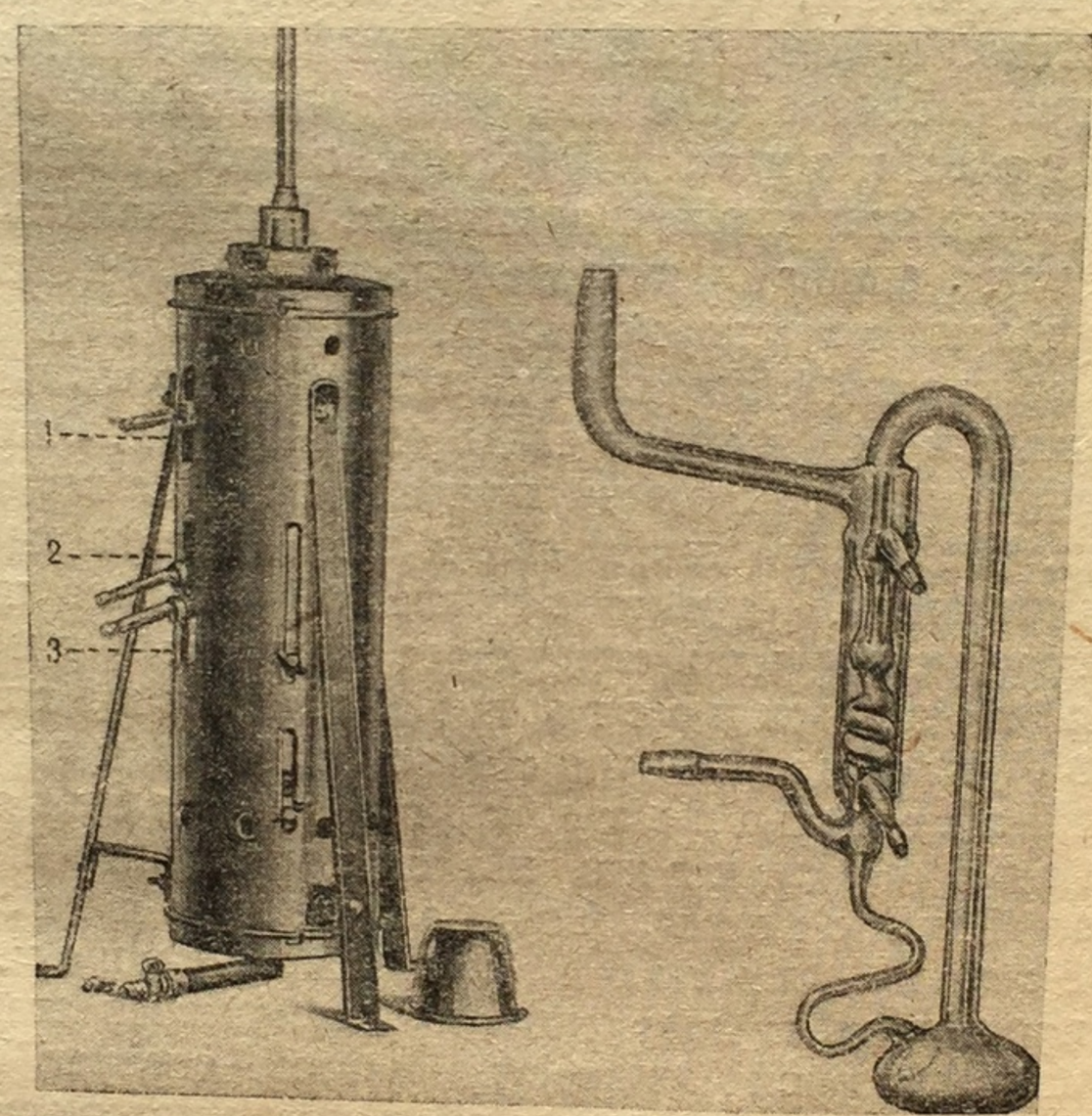


Рис. 72. Ртутный насос Гедэ-Мак-Леода для высокого вакуума при препаративных работах по выделению крист. стеронов. Разрежение до 0,0005 mmHg.

пытаться думать об успехе микро-сублимации. Лучшим для этих целей вполне себя оправдавшим является насос Гедэ-Мак-Леода (рис. 72), дающий нужный вакуум, но при этом совершенно необходим также манометр Мак Леода (рис. 73), который следует включать всегда одновременно с насосом.

Попытка сэкономить на указанном манометре приведет к невозможности пользоваться для серьезной работы самим насосом. Отмучивание и экстракция проводятся в больших делительных воронках от 4 до 8 литров помощью шюттель-машины, причем особое внимание должно быть обращено на шлифы, смазывания

которых жиром по возможности надо избегать. При работе с фарфоровыми выпарительными чашками оправдала себя во всех случаях форма их, приведенная на рис. 74. То же относится и к чашкам для кристаллизации.

Вообще необходимо особенно подчеркнуть, что при работе как с естественными, так и с синтетическими стеронами медленная кристаллизация представляет собой лучший способ. Но при этом нельзя оставлять продукт иначе как в вакууме или в особо закрытых сосудах, не мешающих испарению растворителя вследствие щелевого промежутка по краям. На рис. 75 и 76 показаны образцы подобных кристаллизаторов.

Эти, казалось бы, общеизвестные лабораторные предметы указываются здесь потому, что применение иных форм обычных кристаллизаторов приводило не раз к тому, что продукт оказывался в результате малоактивным, очевидно, вследствие окисления или недостаточной чистоты

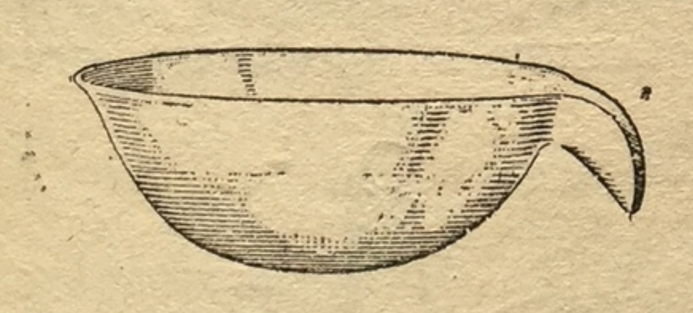


Рис. 74. Выпарительная чашка, одновременно служит и как кристаллизационная для работ с гормонами пола.

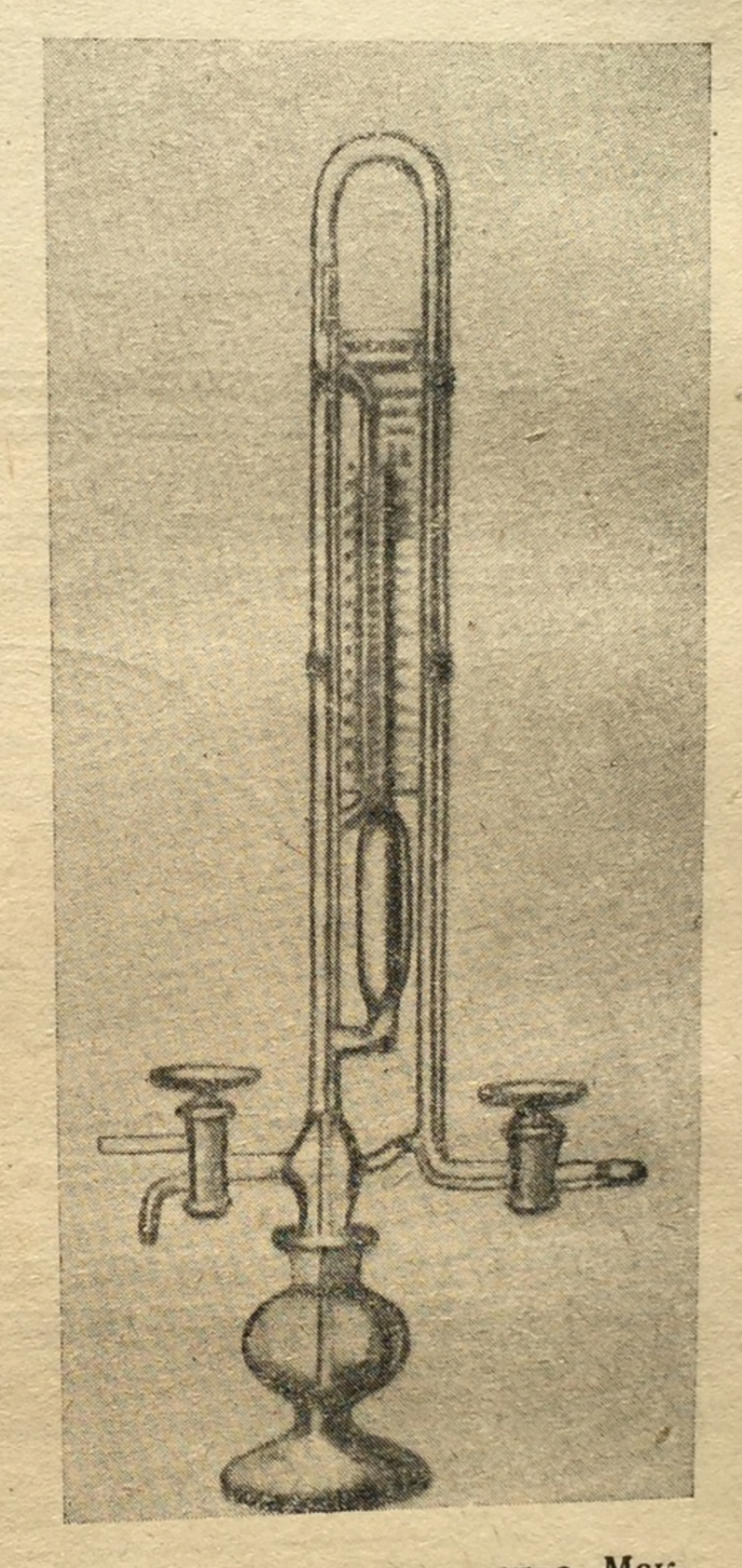


Рис. 73. Модель манометра Мак-Леода для высоковакуумных измерений, употребляемая при вакуумной сублимации.

стеклянной посуды по сравнению с фарфоровой. Для сушки или сгущения экстрактов масел, где требуется иногда различная температура, лучшие результаты дает приборчик с электрическим нагревом, приведенный на рис. 77. Особые его преимущества заключаются еще в том, что в колбу возможно поместить водоотнимающие вещества (H_2SO_4, PCl_5, PCl_3, $CaCl_2$ и т. д.). Проверка реактивов на отсутствие перекисей проводится по обычным, известным из аналитической химии способам, причем главное внимание должно быть уделено эфиру, обычно всегда со-

держащему следы перекисей, удаление которых не представляет затруднений путем дестилляции эфира с хлорным оловом или

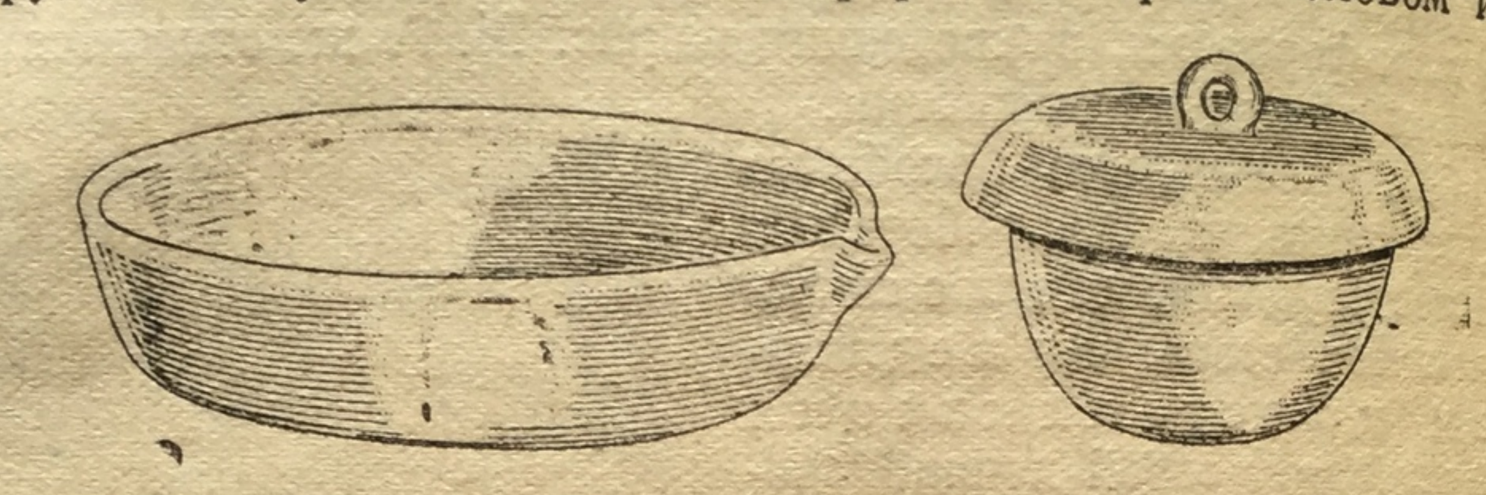


Рис. 75. Фарфоровые кристаллизаторы, применяемые в препаративной химии гормонов пола.

подобными реагентами. Служащий для приготовления «сырого масла» из мочи хлороформ должен быть чистым в той степени,

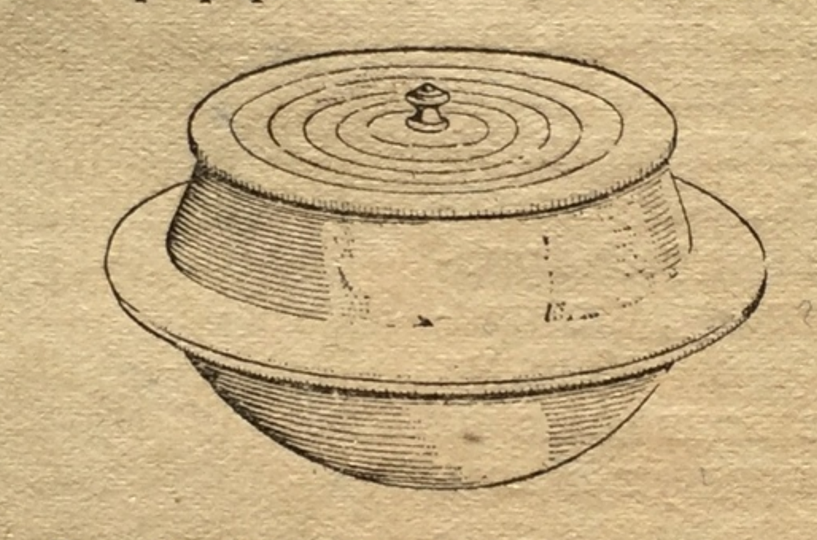


Рис. 76. Закрытый фарфоровый кристаллизатор для выделения стеронов.

которая определяет его как «хлороформ для наркоза». Для экономии и рентабельности работы возможно использовать отгоны

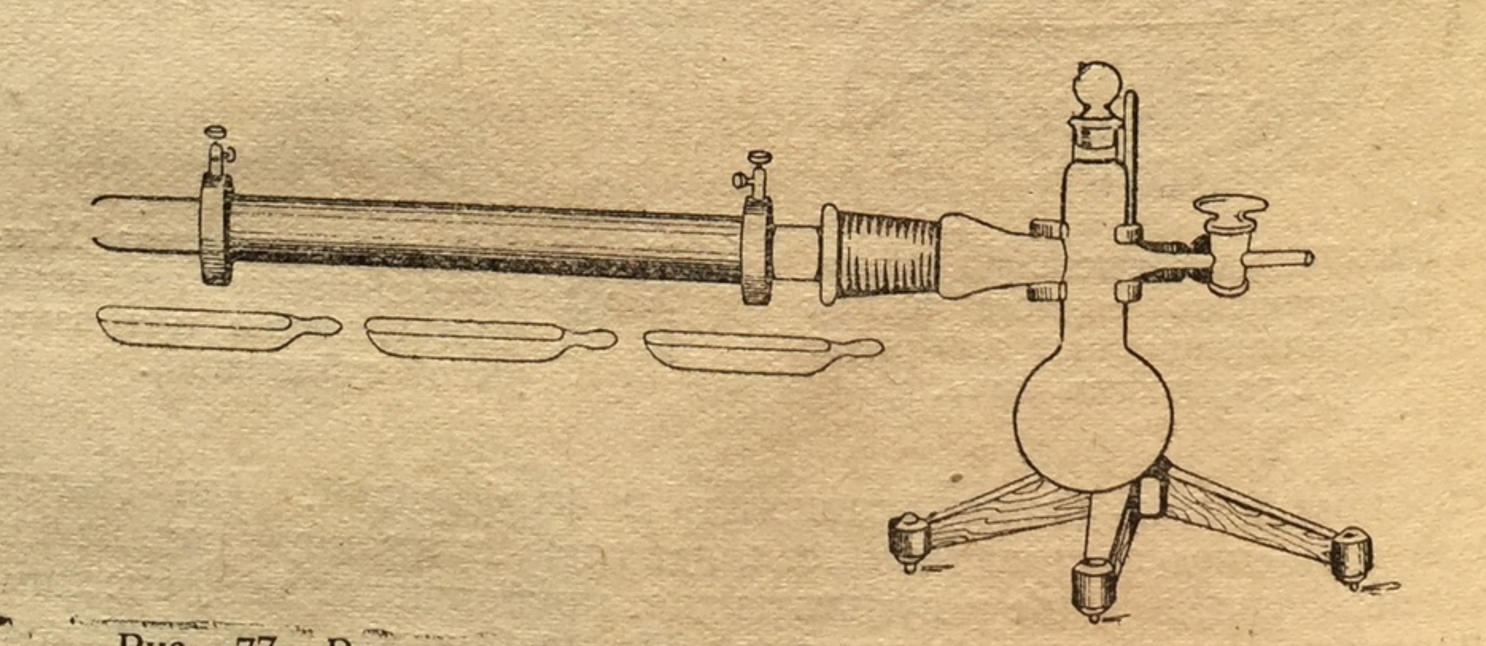


Рис. 77. Вакуумный сушильный аппарат с электрическим нагревом для целей препаративной химии стеронов.

некоторых отработанных растворителей (эфир, хлороформ, ацетон), которые после повторной дестилляции, обезвоживания и пробы на чистоту можно снова употреблять для работы.

2. Получение кристаллического фолликулостерона

В описании способа я буду придерживаться работ Бутенандта и Марриана, а также собственного опыта по получению этого стерона по методу указанных авторов. Предложенная Бутенандтом методика является, пожалуй, наиболее удачной как в смысле ее осуществления, так и по выходам препарата.

Принцип. Исходным материалом является моча беременных, из которой экстракцией эфиром или хлороформом получается «сырое масло», содержащее фолликулостерон с его спутниками. Это масло является исходным для отмучивания. Помощью различных растворителей отделяется гормон от примесей, после чего по химическому поведению его относительно кислот и щелочей достигается еще бо̀льшая его очистка, и полученные высокоактивные масла подвергаются фракционированной сублимации в вакууме, в результате чего выходит кристаллический препарат. Для общей перспективы хода выделения фолликулостерона приводится ниже принципиальная схема анализа. Следует учесть отходы при этом плане работ, имеющие практическое значение: дериваты стеронов — гидрат фолликулостерона, прегнан-диол.

ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ ФОЛЛИКУЛОСТЕРОНА

I этап: Моча беременных женщин

↓ экстракция хлороформом или эфиром

Сырое масло — «Гормонол» (1 гр=30.000 МЕ)

II этап: Разделение между метанолом и лигроином

→ Лигроиновая фаза (отходы)

↓ 1 фракция «Гормонола» (метанольная фаза)

Разделение между этанолом и бензолом

→ Этанольная фаза (гидрат гормона)

↓ II фракция «Гормонола» (бензольная фаза)

Отмучивание содой эфирного раствора

→ Нейтральные фракции, нераств. в щелочах (прегнандиол)

↓ III фракция «Гормонола» (1 гр=до 2 миллионов МЕ) (содовые и воднощелочные вытяжки)

III этап: Фракционирование в вакууме помощью микро-сублимации

↓ Кристаллический фолликулостерон (1 гр=до 40 милл. МЕ) (т. п. 250—252).

Ход анализа выделения фолликулостерона может быть в соответствии с приведенной схемой разбит на следующие этапы работы

I этап. Моча беременных, собираемая в широких фарфоровых чашках вместимостью до 10 L, выпаривается в тяге до $^1/_3$ объема, после чего подкисляется 5 нормальным раствором H_2SO_4 и подвергается экстракции хлороформом (или эфиром) из расчета: $1^1/_2$ объема хлороформа на 1 объем упаренной мочи, по 2 часа три раза на шюттель-машине. Из соединенных фракций отгоняется хлороформ, остаток нагревается около 30 минут на кипящей водяной бане с 5% алкогольным раствором КОН из расчета: 800 см³ раствора щелочи на упаренный остаток из 150 л. мочи. После удаления алкоголя смесь разводится водою и экстрагируется 6 раз эфиром по 15 минут, причем, если расслоение жидкостей идет плохо, следует прибавить толуол (50 см³ на каждые 500 см³ эфира). После окончания эфирной экстракции все эфирные фракции соединяются вместе, после промывки водою и фильтрации отгоняется эфир. В остатке — красновато-бурое масло, неприятного, резкого запаха — «сыроемасло», или «гормонол». Выход из 150 л мочи примерно до 5—6 г «гормонола». Приготовление исходного гормонола может быть в лаборатории совершенно опущено, так как такое сырое масло добывал заводским путем завод «Фармакон» в Ленинграде, выпуская затем его растворы под названием «фолликулен» в продажу. Для работ, естественно, следует брать не «фолликулен», но исходное «сырое масло».

II этап. Гормонол из мочи беременных, завода «Фармакон» в количестве не менее 100 г растворяется в 600 см³ метанола, прибавляется около 300 см³ дестиллированной воды и смесь осаждается в делительной воронке $^1/_2$ объемом чистого лигроина, после чего проводится экстракция в шюттель-машине в течение 30 минут. После отделения метанольной фазы (отстой до 6 часов) при соблюдении тех же пропорций проводится еще два раза экстракция лигроином, последний раз в течение 1 часа.

Все метанольные фракции соединяются, разводятся водой и экстрагируются очищенным от перекисей эфиром ($^1/_2$ объема) около 3 часов на шюттель-машине. Эфирный раствор отделяется, промывается водой, сушится ($CaCl_2$) и эфир отгоняется. В остатке — красно-коричневое масло (I *фракция гормонола*), очень жгучего запаха, выход около 22 г. Полученное масло растворяется в 240 см³ абсолютного алкоголя, добавляется 160 см³ дестиллированной воды и смесь переносится в делительную воронку, где она осаждается 200 см³ бензола. Экстракция на шюттель-машине не более 1 часа. После отделения слоев (иногда до суток) бензольная фракция отбирается, и при соблюдении тех же пропорций проводится экстракция новыми порциями бензола еще два раза по 30 минут. Окрашенные в коричневый цвет бензольные фракции соединяются, и после отгона бензола в вакууме (0,01 мм Hg) результирует коричнево-

желтое масло — II фракция гормонола с различным выходом от 6,0 до 10,0 г. 6 г полученного масла II фракции растворяется в 600 этилового алкоголя (95°) и осаждается 2-нормальным водным раствором HCl, взятым в объеме, равном $^1/_3$ объема смеси. Раствор, доводится до кипения, держится на водяной бане (обратный холодильник) не менее 2 часов, после охлаждения разводится $^1/_2$ объемом воды и дважды экстрагируется по 1 часу абсолютным эфиром. Окрашенные в желтый цвет эфирные растворы, которые обозначим «А», соединяются вместе и экстрагируются насыщенным на холоду водным раствором соды до тех пор, пока новые приливаемые порции содового раствора не перестанут более окрашиваться в желтый цвет (обычно достаточно четырехкратной экстракции содой по 30 минут). Соединенные содовые вытяжки экстрагируются один раз эфиром не менее 30 минут, и отделенный эфирный экстракт присоединяется к исходному эфирному раствору «А». Эфирная смесь осаждается $^1/_2$ объемом нормального водного раствора едкого натра и экстрагируется с новыми его порциями три раза по 12 часов. Все водно-щелочные фракции соединяются, доводятся до кислой реакции (на конго) 5-нормальным раствором HCl и после стояния около часа при комнатной температуре подвергаются экстракции эфиром два раза по 6 часов. Эфирные растворы соединяются промываются несколько раз $^1/_3$ объемом воды и после сушки ($CaCl_2$ безводный) эфир отгоняется в вакууме. В остатке — красноватое масло (III фракция гормонола) неприятного запаха, высокой активности. Выход составляет до 2,5 г. После биологической проверки этого масла, активность которого должна составлять не менее 1 миллиона МЕ, оно подвергается в отдельной пробе обработке хлористым бензоилом с избытком NaOH для выделения кристаллического бензоата. Если этим путем не удается достичь результатов, то тогда необходимо приступить к вакуумной сублимации. Для этой цели рекомендуется иметь изображенные на рис. 78 вакуумные микросублиматоры.

В реторту такого микросублиматора помещается по 300—500 мг. масла III фракции гормонола, и после установки реторты в суховоздушную баню выкачивается с помощью форвакуума воздух до 0,02 мм Hg. Температура поднимается в течение 6 часов медленно до 110—115°. Начинает итти первый отгон в виде желтоватого масла, которое смывается из насадки сублиматора эфиром. Через 12 часов от начала сублимации включается ртутный насос и при вакууме не ниже 0,001 мм Hg температура также медленно в течение 6 часов доводится до 130° и держится еще 10 часов. Начинается выделение на горлышке реторты кристаллов фолликулостерона. Как только первые кристаллы появились, температура поднимается до 150—160° (в течение 4—6 часов) и сублимация ведется при

том же вакууме без перерыва около 24 часов. На этот период приходится максимум выхода гормона. Каждые 12 часов сублимат из насадки сублиматора смывается ацетоном и после получения первых кристаллов необходимо в насадке делать прививку из нескольких кристаллов фолликулостерона. Если выделения кристаллов в интервале 130—160° больше не происходит, температура в течение 12 часов поднимается до 200—220°. Сублимация заканчивается, если за 6 часов при этой температуре после последнего смыва кристаллов больше не образуется. Кри-

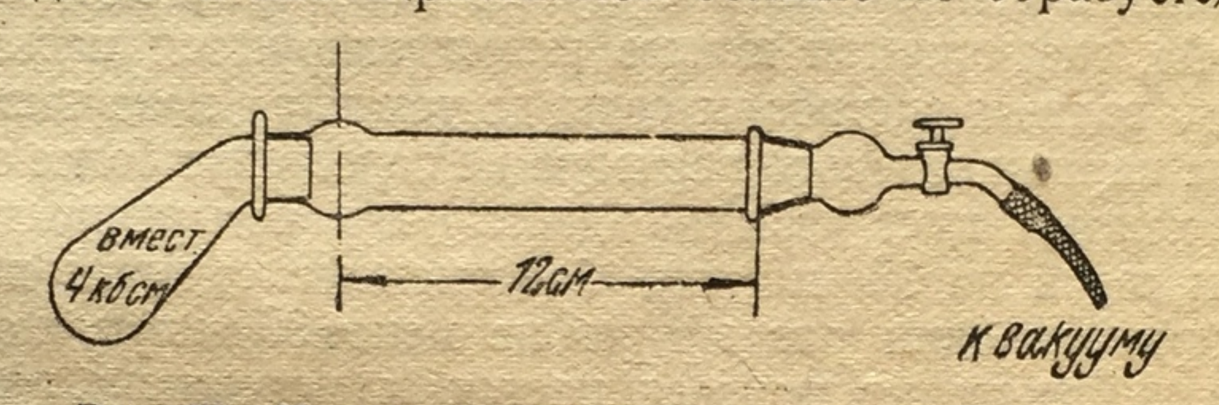


Рис. 78. Модель вакуумного микросублиматора, применяемого в препаративной химии стеронов для их получения в кристаллическом виде.

сталлизат гормона, снятый с горлышка сублиматора, содержит капли желтоватого масла, которое удаляется с него быстрым однократным смыванием холодным абсолютным эфиром. Выход сырых кристаллов около 800—600 мг. Точка плавления 246—248°. Для перекристаллизации кристаллический продукт растворяется в минимальном количестве горячего уксусно этилового эфира и осаждается тем же объемом абсолютного высоко-кипящего петролейного эфира; тотчас же фильтруется от коричневых хлопьев; фильтрат сгущается на водяной бане и оставляется в вакуумной сушилке при 40—60°. Выходят белые ромбические таблички кристаллического фолликулостерона с т. пл. 250—252°С. Потеря при перекристаллизации до 30% исходного кристаллизата. Растворимость в воде до 1,5 мг в 100 см³ при кипячении. Ниже дана схема выходов.

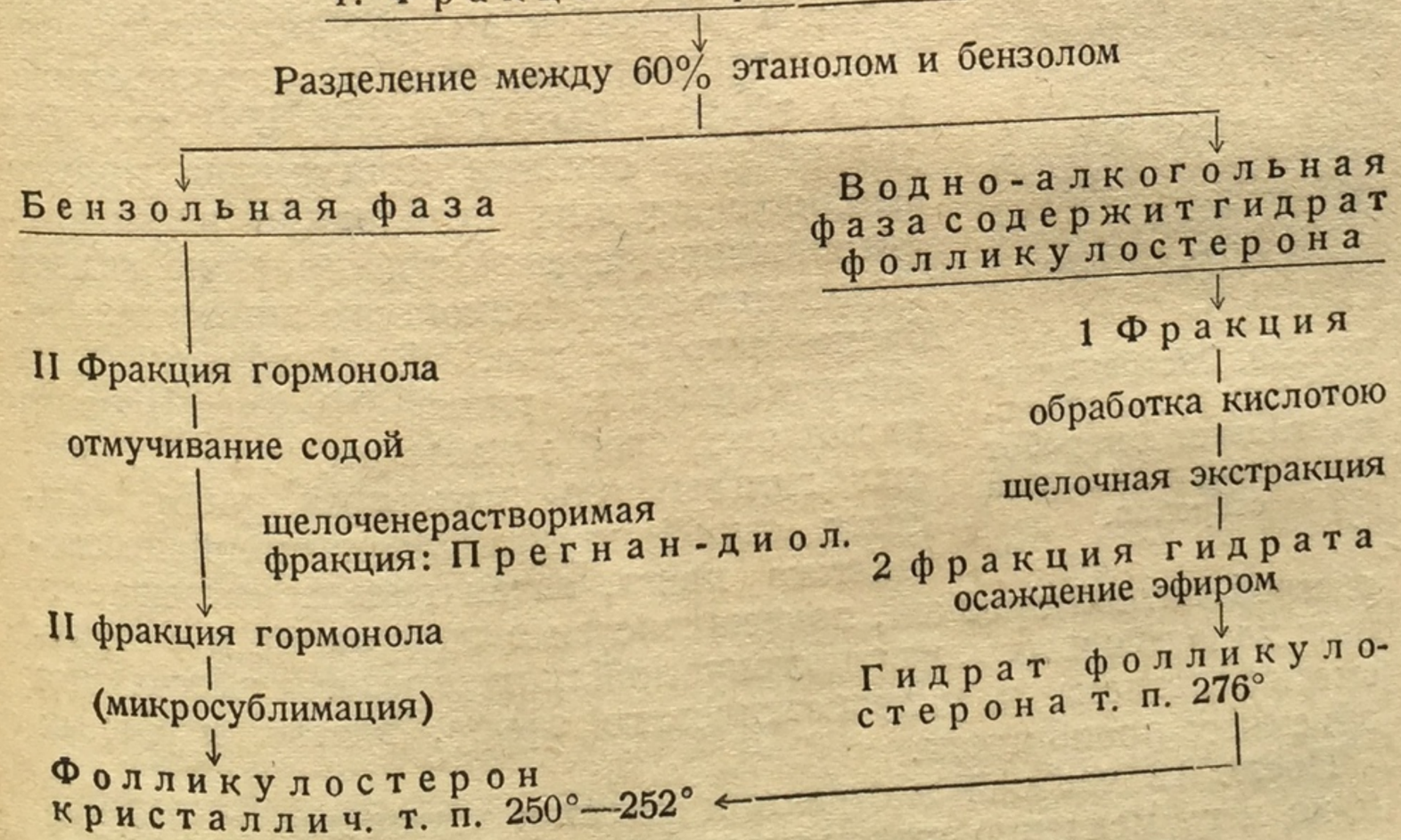
СХЕМА ВЫХОДОВ ФОЛЛИКУЛОСТЕРОНА

1. Сырое масло (гормонол) исх. колич. 100 г
↓
2. I активная фракция масла: выход 22 г
↓
3. II активная фракция масла: выход 6—10 г
↓ Отход: ← Гидрат фолликулостерона
4. III активная фракция масла: выход 2,5 г
↓ Отход: ← Прегнандиол
(микросублимация)
↓
5. Фолликулостерон — кристаллич. продукт выход 800—600 мг, т. пл. 250—252°.

3. Получение кристаллического гидрата фолликулостерона

Из разобранной схемы анализа, служащего для выделения фолликулостерона, следует, что в качестве отхода получаются фракции, содержащие гидрат фолликулостерона. Отсюда становится понятным, что можно увеличить выход кристаллического фолликулостерона, если выделить одновременно его гидрат, а затем перевести последний помощью реакции Бутенандта (отнятием воды) в чистый фолликулостерон. Получение гидрата фолликулостерона из мочи беременных протекает совершенно аналогично получению фолликулостерона вплоть до момента отмучивания масла I фракции гормонола между 60% этиловым алкоголем и бензолом. Фолликулостерон идет при этом в бензол, а гидрат остается в водно-алкогольной фазе. Соответственно различаются два способа обработки этой водно-алкогольной фракции.

1-й способ (по Бутенандту) заключается в том, что по ходу получения фолликулостерона одновременно ведется гидролитическая обработка водно-алкогольной фазы I фракции гормонола по следующей принципиальной схеме анализа.



Ход анализа, следовательно, протекает в общем аналогично схеме получения фолликулостерона: водно-алкогольная фракция (I фракция гидрата) осаждается $^1/_2$ объемом 2-норм. раствора

соляной кислоты и нагревается 3 часа на кипящей водяной бане. Смесь осаждается эфиром и экстрагируется дважды по 1 часу. Соединенные эфирные фракции промываются насыщенным на холоду раствором соды до тех пор, пока раствор соды не перестанет более окрашиваться в желтый цвет. Содовые вытяжки соединяются, один раз экстрагируются эфиром, который присоединяется к исходному эфирному раствору. Эфирные растворы экстрагируются 2 раза по 12 часов с нормальным водным раствором едкого натра. Щелочно водные вытяжки нейтрализуются разведенной HCl до кислой реакции на конго и принимаются в эфир. Эфирный раствор промывается один раз дестиллированной водой, просушивается хлористым кальцием и эфир отгоняется. В остатке — масло, которое растворяется смесью эфира с алкоголем, затем выпаривается до полного удаления растворителя, после чего подвергается вакуумной сублимации (0,005 мм Hg) в течение 3 дней при температуре, поднимаемой за этот промежуток времени с 115 до 160°. Первый отгон — масло, не склонное выкристаллизовываться. На 4—6-й день сублимации при температуре 210° выходит пронизанное кристаллами масло. Кристаллы принимаются в ацетон и выкристаллизовываются после отгонки ацетона из уксусно-этилового эфира. Выход около 600 мг. Для дальнейшей очистки кристаллов гидрата фолликулостерона необходимо вести кристаллизацию через экстракционную гильзу с помощью экстракционного аппарата, изображенного на рис. 79. В гильзу (типа экстракционных гильз Шлейхер-Шюлля) насыпается слой животного угля ($^1/_4$ объема гильзы), на этот слой угля кладется сырой кристаллизат коричневато-желтого цвета, затем гильза закрывается рыхлой ватной пробкой, подвешивается в экстрактор и с обратным холодильником, на электрической плитке ведется экстракция смесью этанола и уксусноэтилового эфира, взятых в равных объемных пропорциях.

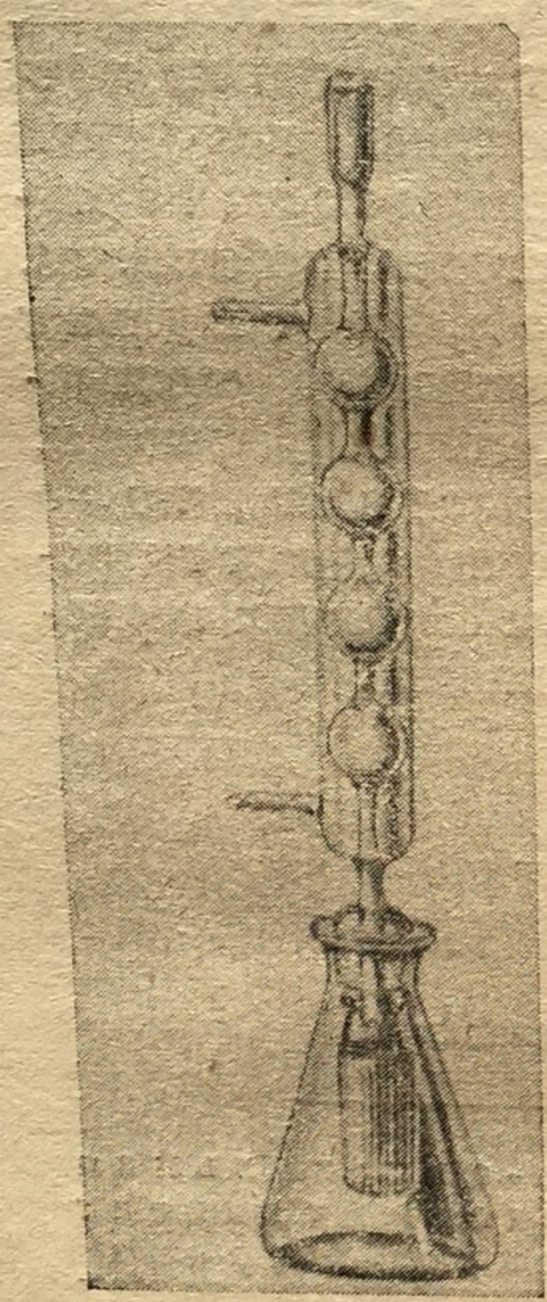


Рис. 79. Экстракционный аппарат с угольной гильзой для работ по кристаллизации стеронов.

После 12 часовой экстракции раствор сгущается в вакууме и из него медленно выкристаллизовывается чистый кристаллический гидрат фолликулостерона с т. пл. 269—270°. Выход от 200 до 170 мг.

2-й способ (по Марриану) основан в сущности на том же принципе, но имеет некоторые модификации, имеющие целью

максимально увеличить выходы препарата. Ход анализа здесь с самого начала несколько усложняется.

Сырое масло гормонол частями по 20 г. нагревается с 5% водным раствором едкого калия на водяной бане по 30 минут. После омыления через смесь пропускается беспрерывно в течение 12 часов струя очищенного CO_2-газа. Когда нейтрализация закончена, проводится исчерпывающая экстракция эфиром. Соединенные эфирные фракции поочередно встряхиваются с разведенной соляной кислотой (для полной нейтрализации), затем с водой, высушиваются (хлористый кальций) и эфир отгоняется. Результирует масло (фракция «а»), которое дважды экстрагируется ацетоном, а из остатка вымораживанием возможно выделить прегнандиол (фракция «б»). Ацетоновые экстракты соединяются и после отгона ацетона остаток 4 раза экстрагируется 50% этанолом (с однократным кипячением). Эмульсия, которая при этом получается, ставится на лед при 0° на 12 часов. Верхний прозрачный слой сливается декантацией, а соединенные водно-алкогольные экстракты высушиваются в вакууме досуха (фракция «в»). Полученный остаток растворяется в небольшом количестве этанола, разводится десятикратным объемом эфира, встряхивается около десяти раз и экстрагируется в течение $^1/_2$ часа с 5% водным раствором едкого калия. Активный принцип переходит при этом в щелочную фазу, которая отделяется от эфира, подкисляется разведенной соляной кислотой (до кислой реакции на конго) и экстрагируется исчерпывающе эфиром (фракция «г»). Эфир удаляется свободным испарением, и полученное масло позволяет при растворении его в смеси алкоголя и эфира выделить кристаллический продукт (вымораживанием эфирно-алкогольного раствора).

Повторение той же операции с маточным раствором дает еще немного кристаллизата — гидрата гормона, который очищается тем же способом экстракции через гильзу, который был описан выше. Маточный раствор выпаривается, остаток принимается в 60% этанол, раствор подвергается кислому гидролизу с соляной кислотой и дальнейшей обработке точно таким же путем, как это было описано для водно-алкогольной фазы I фракции гормонола в изложенном выше первом способе. По Марриану удается получать из 40 г исходного сырого масла до 1,5 грамм сырого кристаллизата гидрата фолликулостерона.

Перевод гидрата в чистый фолликулостерон осуществляется реакцией Бутенандта, покоящейся на отнятии воды от молекулы гидрата. Эта реакция необычайно проста и проводится по следующей оригинальной прописи ее автора: каждые 15 мг кристаллического гидрата (т. пл. 269—270°) растираются в агатовой ступке с 500 мг безводного бисульфата калия, смесь помещается в реторту описанного выше микросублиматора (рис. 78) и в течение 2 часов температура доводится до 110° (вакуум — 0,02 мм). Затем в сле-

дующие 5 часов температура доводится до 180—200° (вакуум—0,002 мм), в течение которых нацело сублимируется чистый фолликулин, определяемый т. пл. 250—252° и характерным биологическим эффектом.

В заключение следует для сравнения физиологического действия использовать следующую таблицу:

Проба Аллена-Дуази:	Инъекция 1-кратн. доза	Инъекция 2-кратн. доза	Инъекция 4-кратн. доза
Фолликулостерон кристалл. т. п.л. 250—252°	8 милл. МЕ	15—20 млн. МЕ	30—40 млн. МЕ
Гидрат полученный по 1-му способу, т. п. л. 260—269°	от 100 000 до 200 000 МЕ	—	—
Гидрат, полученный по 2-му способу, т. п. л. 269—270°	1 милл. МЕ	1 млн. МЕ	9 млн. МЕ

При постановке проб на животных необходимо, естественно, иметь всегда не менее двух контрольных животных, не получавших инъекций гормона.

4. Получение кристаллического лутеостерона

Выделение гормона желтого тела удобнее всего производить из свиных яичников, получаемых с бойни. Появившиеся в последнее время предложения получать гормон из плаценты требуют еще тщательной проверки. Особенности методики выделения определяются нерастворимостью (практически) лутеостерона в воде, прекрасной растворимостью в органических средах и необычайной чувствительностью к щелочам, перекисям и кислороду воздуха, разрушающим активный принцип. Вследствие этого чисто аппаратурное оснащение методики требует ведения работы в фарфоровой, хорошо очищенной хромовой смесью, посуде. Стеклянная посуда должна по возможности быть из стекла Шотта (Jena—Glas) или стекла пирекс. Выделение кристаллического естественного лутеостерона представляет большие трудности и требует таких огромных затрат материалов, что вообще может считаться нерентабельным, особенно при учете того обстоятельства, что возможно получение более простым и дешевым путем синтетического продукта. Несмотря на это, я приведу исчерпывающую методику, позволяющую выделить лутеостерон с наиболь-

шими его выходами. В основу описываемой методики легли работы Аллена, Гартмана и Бутенандта с некоторыми, однако, отступлениями в деталях, как этого потребовал личный опыт выделения стерона, проведенный в 1935 г.

Принцип способа заключается в том, что из свежих свиных яичников вырезываются желтые тела, из них извлекается гормон после алкогольной экстракции в бензол, ацетон или эфир, и после отмучивания между петролейным эфиром и метанолом, бензолом и этанолом возможно выделить примеси, в результате чего получается высокоактивное сырое масло «корпорол». Осаждение этого масла семикарбазидом ведет к еще бо́льшему очищению гормона, который затем вакуумной дестилляцией получается в кристаллическом виде из фракций расщепленного семикарбазона. Большие трудности представляет при этом предварительная обработка яичников до стадии получения корпорола и дальнейшая разгонка фракций расщепленного семикарбазона, полученного обработкой этого масла. Потери вещества обусловлены при этом необычайной трудностью отделения холестерина и фолликулярного гормона, присутствующих в яичниках.

Гартман рекомендует для выделения лутеостерона из сырого масла «корпорола» методы адсорпции с элюцией с помощью земли Фуллера. Попытки, сделанные мною, повторить его опыты не увенчались успехом, наоборот, создалось впечатление о необратимой адсорпции, где гормон уходит почти нацело в адсорбат. Интересующимся специально этими способами следует обратиться к оригинальным работам Гартмана.

Ход анализа распадается, как видно из приведенной схемы, на целый ряд этапов, по которым и будет изложена методика.

Исходным материалом служат свиные яичники, уже при выделении только сырого масла «корпорол» имеют место огромные потери, так что из 1 000 кг (160 000 шт.) яичников выходит не более 400 грамм сырого масла. Имеет смысл начинать работу, если имеются большие количества яичников.

Из свежих теплых яичников вырезаются Corpora lutea, которые легко установить и найти, руководствуясь теми анатомическими сведениями, которые были приведены в главе первой. Собранная ткань размельчается в мясорубке, а затем пропускается через мясодробилку «Latapie»; полученная кашица сохраняется в двойном объеме 95° алкоголя около года без потери активности (защита от дневного света). Около 3 кг приготовленной описанным образом ткани Corpora lutea фильтруется через марлю, остаток разделяется на две равные части, помещается в экстракционные гильзы и экстрагируется 5 раз по одному часу горячим 95° алкоголем в экстракционном аппарате Блоора или Френкеля. Я предпочитаю, по причинам которые подробно изложены

ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА ХОДА АНАЛИЗА ВЫДЕЛЕНИЯ ЛУТЕОСТЕРОНА ИЗ ЯИЧНИКОВ

Corpora lutea

|

Экстракция алкоголем

|

экстракция эфиром

↓

1 фракция масла

|

(ацетон + $MgCl_2$)

|→ осадок фосфолипины, сфингомиэлин

↓

II фракция масла

|

разделение в 70% метаноле и петролейном эфире
вымораживание

↓

III фракция масла

|

обработка этанолом
вымораживание из
метанола

↓

Сырое масло — «Корпорол»

↓

1 фракция — семикарбазон гормона

↓

расщепление кислотами

|

2 фракция — «Корпорола»

|

(вакуумная дестилляция)

|

↓ Фракция А

|

алкоголь

|

↓ Фракция A_1
трудно раств.

|

ацетат

|→ маточн. раствор

|→ Оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$

↓ Фракция A_2 — легко растворимая

↓

алкоголь: ацетон

↓

сублимация

↓

Лутеостерон т. п. 121° и 128°
кристаллич.

↓ Фракция В
(отход)

были в другом месте (Ремезов), аппарат Френкеля (рис. 80), позволяющий брать без нарушения хода экстракции пробы на полноту экстракции и не требующий надзора, так как он работает исключительно надежно. Для каждой экстракции следует брать не менее 400 см³ 95° алкоголя.

Однако полноты удаления липоидов из тканевой массы этим путем достичь не удается без того, чтобы повредить активное начало. Поэтому мною предложено после двукратной экстракции алкоголем в аппарате Френкеля остальные три экстракции проводить в специальном паровом экстракционном аппарате, изображенном на рис. 81.

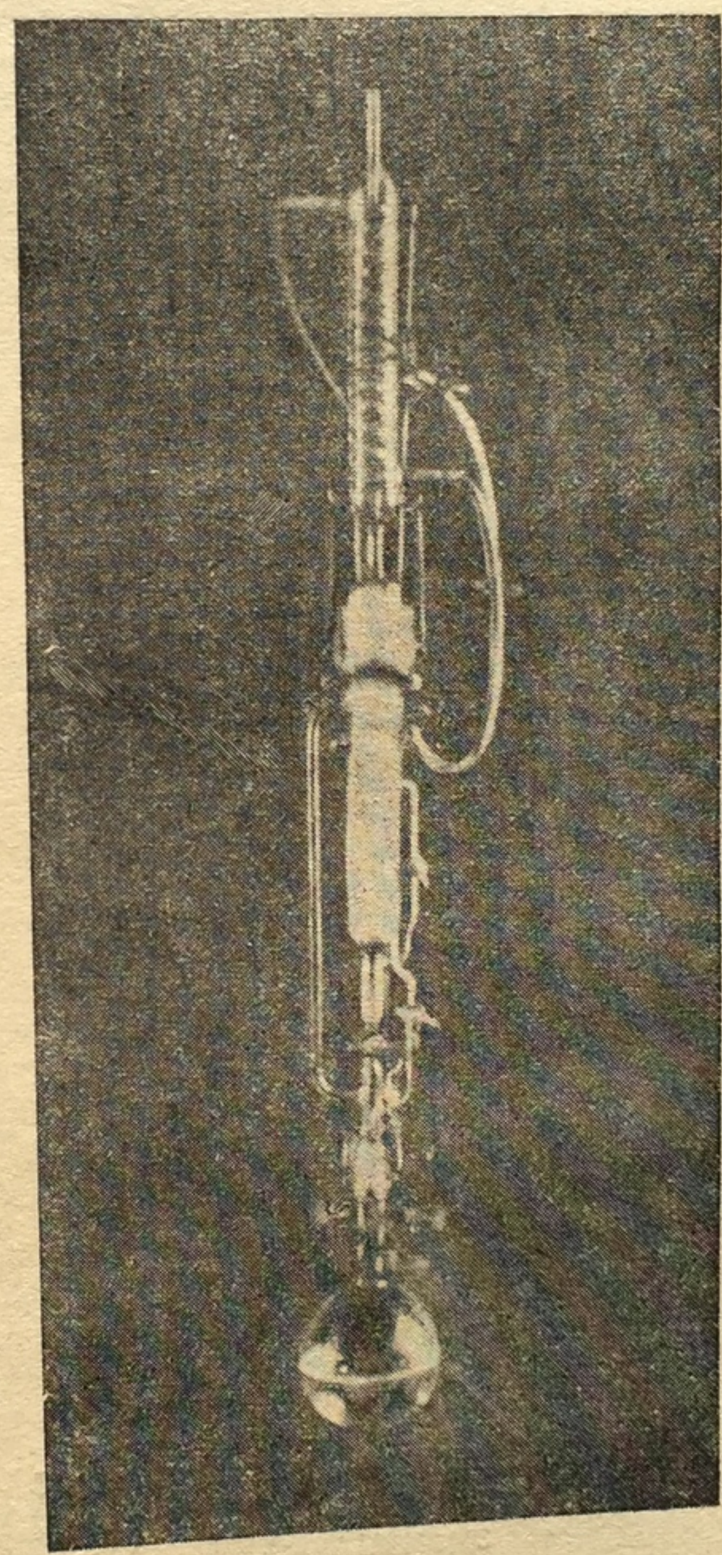


Рис. 80. Экстракционный аппарат Френкеля для извлечения стеринов и липинов.

В экстрактор этого аппарата вносится тканевая масса уже не в гильзе, а помещенная рыхло в марле, что облегчает пропитывание ее парами алкоголя. Соединенные алкогольные экстракты не отфильтровываются, алкоголь отгоняется в вакууме, точно так же отгоняется отдельно алкоголь, в котором сохранялась ткань до экстракции. Отгон алкоголя ведется при температуре не выше 60°. Остатки от обеих перегонок соединяются и экстрагируются в аппарате Френкеля или в обычных сокслетах 5 раз эфиром, свободным от перекисей, или петролейным эфиром. Для первых двух экстракций берется по 500 см³, остальные проводятся с 250 см³ чистого эфира. По окончании экстракций (не более 2 часов каждая) эфирные растворы соединяются и сгущаются в вакууме до объема 100—150 см³. К этому объему добавляется 4 кратный объем холодного ацетона и смесь осаждается 10 см³ холодного алкогольного насыщенного раствора хлористого магния. Выпадающий тяжелый осадок отделяется декантацией, осадок снова растворяется в эфире, опять осаждается ацетоном с магнезией, и так повторяется еще четыре раза. После второго переосаждения

обычно не весь осадок растворим в эфире — на дне остается беловатый сфингомиэлин, его не имеет смысла отдельно удалять, так как он смывается ацетоном. Осадки не нужны, а эфирно-ацетоновые фильтраты соединяются и в вакууме отгоняется растворитель. Полученное масло (1-я фракция) растворяется в минимальном количестве эфира. переносится в центрифужную пробирку и подвергается сильному центрифугированию (3000 оборотов) для удаления воды. Слой эфира, снимается пипеткой и в фарфоровой кристаллизационной чашке дают эфиру свободно испариться. Выходит полужидкая смолистая масса (II фракция) — около 10 г на 1 кг исходной свежей ткани. Стойкость этой фракции не более 1 месяца, и способы Аллена, Мейера и др., направленные к ее увечению, не подтвердились.

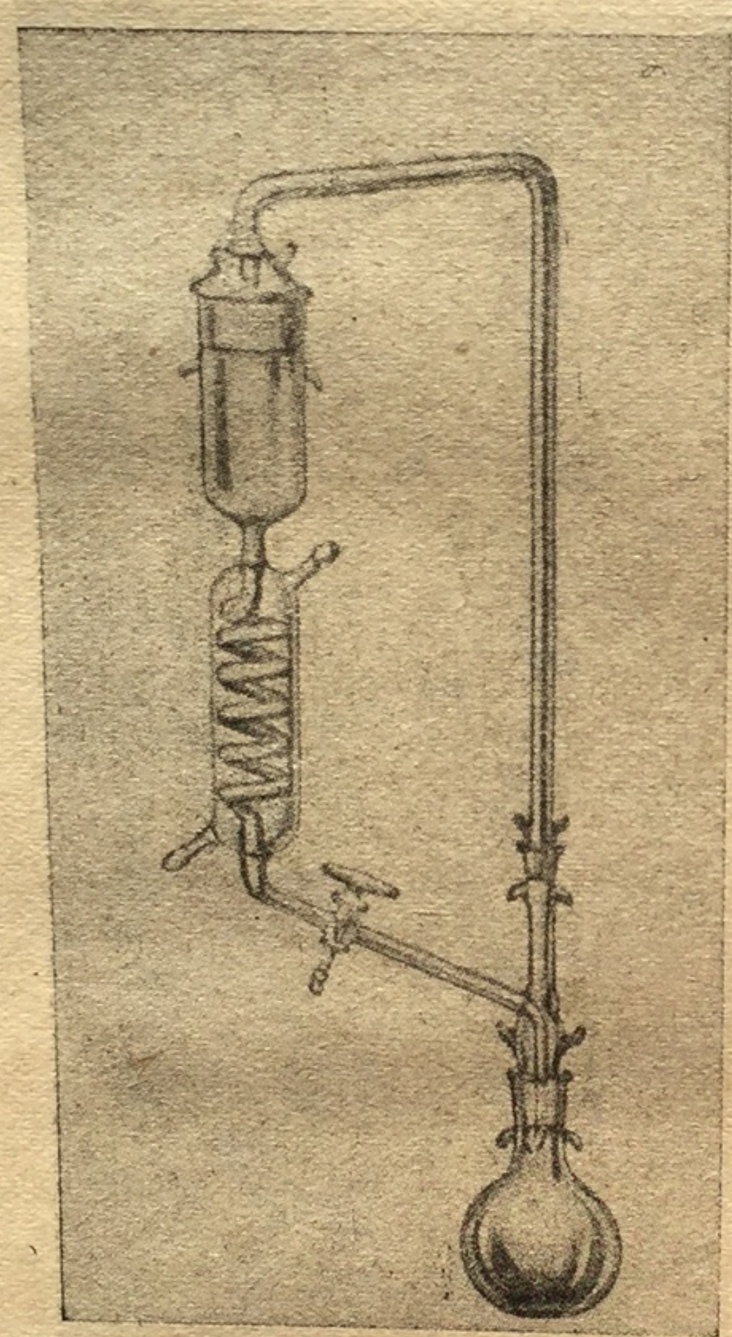


Рис. 81. Экстракционный аппарат для извлечения паром (паровой экстрактор).

Следующий этап — очистка от нейтральных жиров помощью вымораживания в метаноле. Для этого 30 г масла (2-я фракция) сильно встряхивается с кипящим метанолом (300 см³) в течение 15 минут, после чего смесь переносится в большие (50—75 см³) центрифужные стаканчики и опускается в замораживающую смесь (—5°) на 12—24 часа. По истечении этого времени материал центрифугируется по 30 мин. (3000 оборотов), верхний прозрачный слой жидкости сливается декантацией и снова оставляется на леднике при—5°, а нерастворившаяся часть обрабатывается метанолом; так эта процедура повторяется до тех пор, пока метанол не перестанет более окрашиваться в желтый цвет (около 6 раз). В результате такого вымораживания нерастворимый осадок представляется в виде светложелтого жира, пронизанного белыми кристаллами холестерина.

Все метаноловые фракции соединяются вместе, в вакууме доводятся до объема 100—150 см³, и процесс описанного выше вымораживания может быть повторен еще один раз. Затем метиловый алкоголь отгоняется в вакууме нацело,

остаток принимается в 100—200 см³ петролейного эфира, промывается раствором 0,01 нормального едкого натра, водой, и эфир отгоняется. Остаток принимается в этиловый эфир, растворитель отгоняется, остаток обезвоживается абсолютным алкоголем, который затем до половинного объема отгоняется в вакууме. Полученное масло сгущается в вакуумэксикаторе или, еще лучше, при комнатной температуре в сушильном аппарате (рис. 77). Выход масла (3-я фракция) — около 6 г коричневого цвета, вязкое, ароматического запаха.

Для получения высоко активного сырого масла — корпорола, содержащего гормон в еще более очищенном виде, применяется следующая комбинированная методика: масло 3-й фракции растворяется в 80% этаноле (10 г масла в 225 см³ этанола) и совершенно так же, как и при выделении фолликулярного гормона (см. выше), отмучивается между этанолом и бензолом три раза подряд. Гормон переходит в бензольную фазу. После отгонки бензола маслянистый осадок переносится в 75% этанол (10 г масла 225 см³ этанола) и в делительной воронке встряхивается 15 минут с петролейным эфиром, взятым в половинном объеме. Эта процедура повторяется с новыми порциями петролейного эфира три раза, после чего петролейно-эфирные фракции, содержащие примеси, удаляются, а фракция этанольная дестиллируется досуха в вакууме. Полученное масло принимается в абсолютный алкоголь для обезвоживания, последний нацело отгоняется в вакууме и остаток растворяется в абсолютном эфире. После отгонки эфира результирует красно-коричневое жидкое масло — корпорол, выход около 2 г с активностью в биологической пробе до 1 КЕ в 15 мг. Активные масла — в дозе 5 мг, как это указывает Бутенандт, мне не приходилось наблюдать ни разу.

2 г сырого масла корпорол, которое представляет красно-коричневую жидкую массу, растворяется при слабом нагревании в 15 см³ абсолютного алкоголя и осаждается тем же объемом алкогольно-уксуснокислого раствора семикарбазида. Смесь прогревается до часу на водяной бане и сгущается в вакууме до первоначального объема (15 см³). При стоянии выпадает сырой семикарбазон гормона в виде тяжелого пропитанного маслом кристаллизата, который отфильтровывается на воронке Бухнера, промывается на фильтре водным алкоголем и затем горячей водой. Выход около 550 мг; т. пл. сырого продукта 260°. Маточный раствор (фильтрат) физиологически не активен. 500 мг семикарбазона нагреваются 1 час до кипения на водяной бане с 20 см³ абсолютного алкоголя и 10 см³ 50 норм. раствора серной кислоты. Смесь по охлаждении разводится $^1/_2$ объемом воды и коричневато окрашенный прозрачный раствор экстрагируется эфиром. Желтый эфирный экстракт отгоняется в вакууме; в результате остается прозрачное,

желтое, как мед, масло, частично пронизанное кристаллами. Выход — около 150—100 мг.

Полученный продукт помещается в реторту микросублиматора (рис. 78) и подвергается медленной дестилляции при 120° (вакуум 0,001 мм) в течение 6—12 часов. Первый отгон дает наибольший выход бесцветных кристаллов (около 150 мг), которые смываются абсолютным алкоголем и затем экстрагируются в гильзе с углем (рис. 79) один раз в течение 5 минут с разведенным алкоголем. После испарения алкоголя выходит кристаллизат, который нетрудно фракционировать повторной кристаллизацией на две фракции.

Фракция A_1 — труднорастворимая в алкоголе, дает т. пл. 145—155° и наибольший выход.

Фракция A_2 — легкорастворимая в алкоголе, дает т. пл. 75—85°.

Физиологическая активность обоих препаратов достигает доз 1 единицы в 1 мг.

Кристаллизат фракции A_2 при перекристаллизации из разведенного алкоголя и ацетона около 5 раз дает иглы с т. пл. 110°. Если эта точка плавления достигнута, тогда следует дробной кристаллизацией из метил-циклогексана и уксусно-этилового эфира добиться выделения кристаллов с т. пл. 128—129°. В противном случае необходимо приступить к микросублимации — 2 дня при температуре 120° (вакуум не ниже 0,001 мм). Первый отгон — масло, которое дает при разведении 80° алкоголем иглы с т. пл. 85—90°. Вторая фракция отгона идет в виде кристаллических игл с т. пл. 117—118°, после перекристаллизации которых (6 раз) из разведенного алкоголя выходят ромбические кристаллы лутеостерона с т. пл. 128,5° и активностью — I KE в 0, 75 мгр. Выход до 120 мг. из 500 мг фракции A_2.

Из кристаллизата фракции A_1 может быть получен оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$ с т. пл. 194°, физиологически недеятельный спутник лутеостерона. Для этого 100 мг кристаллизата нагревается 15 мин. с 2 см³ ангидрида уксусной кислоты до кипения. Горячая смесь выливается в кипящий абсолютный алкоголь, к которому затем прибавляется вода до появления мути. Выпадает ацетат оксикетона — выход 40 мг, иглы с т. пл. 112—125°; путем повторных перекристаллизаций из алкоголя выходит чистый продукт в плоских листках с т. пл. 144,5°.

Кипячением в течение 1 часа ацетата с 10% раствором KOH в метаноле образуется оксикетон, выпадающий в осадок при осаждении горячей смеси 5-норм. раствором серной кислоты. После повторной кристаллизации из алкоголя и микросублимации в вакууме (0,001 мм) выходит чистый оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$ с т. пл. 194°.

В заключение приводится схема выходов кристаллического гормона и промежуточных продуктов соответственно изложенному ходу его выделения из свиных яичников.

СХЕМА ВЫХОДОВ ЛУТЕОСТЕРОНА

1. Яичники свиные=1000 килограмм=160.000 шт.

↓

2. Сырое масло «Корпорол»=400,0—350,0 гр

↓

3. 1 фракция «Корпорола»—
(сырой семикарбазон)=100—150 гр

↓

4. II фракция «Корпорола»=30,0—35,0 гр.

↓ Фракция А — Фракция В (отход)

↓ Кристаллизат A_1=10.0—10.5 гр. — Кристаллизат A_2=5.5—5.0 грамма

↓ Ацетат оксикетона=6.6 гр.

↓ Оксикетон $C_{21}H_{34}O_2$=5,0—4.5 гр — Лутеостерон т. п. 121 и 128°
всего от=1500 до 1000 гр.

Выделение прегнандиола, являющегося, как известно, спутником гормона желтого тела, имеет значение, как будет следовать из дальнейшего, для синтеза последнего. Поэтому на получении этого стерина в кристаллическом состоянии необходимо остановиться здесь подробнее. Это особенно важно также в связи с работами Гартмана, опубликованными в 1935 г. и позволяющими выделить наряду с прегнандиолом его аллоизомер. Основным источником получения прегнандиола служит моча беременных, причем обработка последней должна протекать точно так же, как это описано при получении кристаллического фолликулостерона. Как следует из приведенной там принципиальной схемы анализа, главные массы прегнандиола содержатся в нейтральной нерастворимой в щелочах при отмучивании содой II фракции гормонола (сырого масла, накопленного в бензольной фазе). По ходу анализа выделения фолликулостерона эта фракция, содержащая прегнандиол, находится в эфирном растворе. Если не требуется выделить по отдельности изомеры прегнандиола, то тогда смесь после испарения эфира нетрудно выкристаллизовать из ацетона. Однако при этом выходят обе формы—cis-и trans-изомеры.

Для фракционированного разделения каждого из изомеров необходимо поступить следующим образом: эфирный раствор освобождается в вакууме от растворителя и затем в вакуумном сушильном аппарате высушивается остаток. Совершенно сухой порошок помещается в гильзы и экстрагируется в аппарате Френкеля (рис. 80) бензолом в течение 4—5 дней подряд, сменяя каждые сутки бензол в экстракционном сосуде. Соединенные

бензольные фракции подвергаются вакуумной дестилляции и после полного отгона бензола остается дурно пахнущая темнокоричневая масса, пронизанная грубыми кристаллами. Эта масса растирается с безводным ацетоном, в результате чего нейтральная фракция прегнандиола почти нацело выкристаллизовывается, в то время как коричневая смола идет в раствор. Сырой желтоватый кристаллизат отфильтровывается на Бухнере и промывается несколько раз холодным ацетоном, чем достигается еще большая его очистка и обесцвечивание. Если кристаллизат не удается вполне очистить этим путем, тогда проводится очистка его помощью угольной гильзы с кипящим 90° алкоголем, соответственно описанному на рис. 79 приспособлению.

Из бесцветного алкогольного фильтрата при сгущении его до $^1/_3$ объема и прибавлении к нему дестиллированной воды выпадает белый кристаллический порошок — смесь, примерно, $^5/_6$ ч. прегнандиола и $^1/_6$ ч. аллопрегнандиола. Точка плавления этой смеси 220—228°. Выделение обоих изомеров осуществляется двумя путями: фракционированной, дробной кристаллизацией и ацетилированием. Перекристаллизация из кипящего уксусно-этилового эфира и алкоголя дает преимущественный выход прегнандиола с его точкой плавления. Дальнейшее фракционирование из маточного раствора дает, однако, уже все время смешанные кристаллизаты обоих продуктов. Для их разделения к 10 г кристаллической смеси диолей прибавляется 100 см³ ангидрида уксусной кислоты, и на масляной бане смесь доводится до кипения. При остывании смеси выходят кристаллы диацетата. Однократная кристаллизация из уксусноэтилового эфира, ацетона или метанола дает чистые кристаллы в виде игл с т. пл. 181—182° прегнандиол-диацетата. Омылением с 5% алкогольным раствором едкого калия (25 см³ раствора на каждый грамм диацетата) получаются блестящие кристаллы чистого прегнандиола, свободного от примесей аллоизомера.

Осторожное сгущение маточного раствора, содержащего ангидрид уксусной кислоты до $^1/_4$ объема и затем охлаждение его до—10° приводит к кристаллизации сырого диацетата аллоизомера. Дробной кристаллизацией выходит сначала плавящаяся при 130—160° фракция, содержащая еще диацетат прегнандиола, при дальнейшем сгущении маточного раствора получается, наконец, фракция, состоящая преимущественно из кристаллов диацетата аллопрегнандиола и показывающая т. пл. 115—130°. Дальнейшее разделение и получение чистых кристаллов диацетата аллоформы достигается дробной кристаллизацией из метанола и особенно из гексана. Омылением эстера возможно притти к чистым кристаллам аллопрегнандиола с т. пл. 248—248,5°.

Идентифицирование диолей не представляет труда как по форме кристаллов, микрофотограммы которых были приведены в главе

второй, так и по их характеристическим точкам плавления и оптическому вращению. Выходы диолей достаточно высокие, так например, из исходного сырого масла мочи беременных в количестве 100 г получается до 5 г прегнандиола и около 1,5—1,0 г аллоизомера.

5. Получение кристаллического тестикулостерона

Исходным материалом для получения мужского сексуального гормона могут служить или моча мужчин, или яички. Последние берутся от быков или других крупных самцов.

Принцип обработки яичек покоится на способе чикагских авторов (Кох—Мур—Галлагер), которые измельчают бычьи яички в мясодробительной машине типа «Latapie», высушивают и экстрагируют в алкоголе, аналогично описанному способу обработки яичников для получения лутеостерона. Алкогольная вытяжка экстрагируется бензолом, куда переходит активный принцип. После отгона бензола остаток переносится в ацетон и вымораживается при — 10°. Продукт, далее, отмучивается между 70% этанолом и гексаном, затем переводится в эфирный раствор, откуда экстрагируется щелочами и кислотами. Результирующее высокоактивное масло фракционируется затем по Лакеру путем высоковакуумной сублимации, однако однородных кристаллизатов этим способом получить не удалось. Фраттини и Маино шли другим путем, приготовляя водные вытяжки из яичек, и указывают, что им удалось получить кристаллизаты гормона. Однако необычайно скупо описанный ими способ до сих пор ни одному из исследователей не удалось репродуцировать. Кроме того, препараты этих исследовательниц имеют кислый характер и, повидимому, вовсе не представляют собой тестикулостерон, во всяком случае в чистом состоянии.

Таким образом путь выделения мужского полового гормона из яичек является сложным и мало успешным, не позволяя имеющимися методами выделить достоверные кристаллизаты тестикулостерона. Более надежный путь, дающий по способу Черниинга и Бутенандта безусловные выходы кристаллического гормона, имеет своим исходным материалом мочу мужчин.

Принцип способа заключается в приготовлении хлороформных экстрактов (сырого масла) из выпаренной мужской мочи, причем из 25 000 л ее возможно получить до 160 г такого масла. Затем идет очищение активного принципа из этого масла путем химической обработки; щелочная экстракция, кислый гидролиз и отмучивание между различными растворителями. Гормон удается преимущественно выделить в петролейно-эфирную фазу, откуда дальнейшим отмучиванием он переводится в алкогольную фазу. В последней он высокоактивен, и переводом в оксим возможно достичь его наибольшей

степени чистоты. Высоковакуумная дестилляция (в температурном интервале между 65 и 85°) продуктов расщепления оксима дает кристаллизат гормона, который без труда может быть последующей кристаллизацией очищен и выделен в однородном виде — в кристаллах с т. пл. 178°.

В общем из изложенного вытекает, что ход анализа аналогичен за немногими отступлениями выделению фолликулярного гормона из мочи беременных. Важно отметить в заключение, что из бензольной фракции, являющейся отходом, Чернинг выделил кристаллизат, обладавший противоположным тестикулостерону действием, а также еще продукт формулы $C_{18}H_{30}O_2$ с т. пл. 232°, физиологически неактивный в дозах до 1 мг. Представляет поэтому большой исследовательский интерес эту фракцию изучить подробнее и точнее, учитывая также возможность наличия в ней фолликулостерона.

ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА ХОДА АНАЛИЗА ВЫДЕЛЕНИЯ ТЕСТИКУЛОСТЕРОНА

1 этап — Сырое масло из мочи
↓
омыление щелочами
гидролиз кислотами
↓
2 этап — 1 фракция масла
↓
отмучивание между бензолом и петрол. эфиром
↓
Бензольная фаза (отход) | Петролейно-эфирная фаза
II фракция масла
↓
распределение между алкоголем и петр. эфиром
↓
Алкогольная фракция | Петролейно-эфирная фракция
III фракция масла
↓
Оксим тестикулостерона
↓
3 этап — 1-я фракция гормона
↓
(продукт расщепления оксима)
↓
Высоковакуумная дестилляция
↓
Тестикулостерон кристалл.
т. п. 176—178°

Ход анализа может быть разбит на ряд этапов, каждый из которых представляет собой отдельную законченную систему

операций. 1-й этап обнимает все процедуры очищения исходного материала — мочи вплоть до получения I фракции сырого масла; 2-й этап объединяет обработку масла методами отмучивания, вплоть до получения I фракции гормона; 3-й этап работы касается выделения кристаллического стерона.

Собранная мужская моча обрабатывается первоначально совершенно идентично обработке мочи беременных, как это было подробно описано для фолликулостерона, вплоть до стадии получения сырого масла, аналогичного гормонолу мочи беременных. Сырое масло из мужской мочи должно в биологической пробе дать следующую активность: 1 НЕ=150—160 мг масла. Если активность добытого масла ниже, необходимо процесс хлороформной экстракции повторить еще один раз.

Сырое масло в количестве 20 г на одну порцию растворяется в 500 см³ эфира и экстрагируется тем же объемом насыщенного на холоду водного раствора соды по 6 часов три раза, и в заключение 1 раз 2-нормальным раствором едкого натра. В щелочных вытяжках содержится до 90% примесей, причем нейтральная фракция гормона остается в эфирном растворе. После отгона эфира тягучее жидкое коричневое масло подвергается перегонке с паром в течение 4 часов, что удаляет около 35% примесей. Продукт, оставшийся после перегонки, подвергается щелочному омылению помощью 5% водного раствора едкого калия на кипящей водяной бане в течение 2 часов. После охлаждения, смесь подвергается исчерпывающей экстракции этанолом, куда переходит очищенный стерон. Водная щелочная фаза должна быть выпарена и проверена на полноту экстракции — биологическая проба с остатком должна быть отрицательной. Алкогольный экстракт осаждается $^1/_3$ объема метанольного раствора соляной кислоты в концентрации ее полного насыщения в метаноле, и на кипящей водяной бане ведется кислый гидролиз в течение 1—2 часов. По окончании гидролиза растворитель удаляется отгонкой в вакууме, оставшееся масло принимается в эфир, промывается 0.1 норм. раствором щелочи и водой до тех пор, пока промывные воды не дадут нейтральную реакцию; эфир отгоняется и результирует коричневое тягучее масло — I фракция сырого масла. Следующий этап работы сводится к очищению I фракции масла путем отмучивания между различными растворителями. Выход масла около 8,5 г, с активностью — 3,0—3,5 мг. на 1 НЕ. Это масло растворяется в 100 см³ бензола, который повторной дестилляцией должен быть вполне безводным, и осаждают тем же объемом высоко-кипящего петролейного эфира, при встряхивании реакционного сосуда в руках в течение $^1/_2$ часа. К петролейно-эфирному раствору (II фракция масла) прибавляется двойной объем этилового алкоголя, содержащего до 60% безводного

метанола, и гормон извлекается в течение 4 часов на шюттель-машине, повторив эту процедуру с $^1/_2$ объемом алгоколя еще два раза. Петролейно-эфирная фракция содержит примеси — в алкогольной фазе находится гормон (III фракция масла). Для дальнейшей очистки гормона в горячий раствор полученной алкогольной фазы прибавляется 1 г животного угля, который немедленно отфильтровывается. В фильтрате гормон в еще более очищенном виде. После отгона растворителя получается масло III фракции, желтого цвета, жидкой консистенции — выход около 2,5—3,0 г, активность его должна составлять 1 НЕ в 1,0—0,5 мг масла.

Из такого масла возможно получить прекрасно кристаллизующиеся дериваты гормона — семикарбазоны, тио-семикарбазоны и оксимы. В смысле выходов оказался более удачен метод Чернинга, основанный на выделении оксима.

3 г масла III фракции растворяются при нагревании в 95° алкоголе и осаждаются избытком (тройной объем) солянокислого гидроксиламина, растворенного в насыщенном растворе ацетата натрия. Смесь кипятится в течение 6 часов на кипящей бане, после чего в вакууме сгущается до $^1/_3$ объема; в результате выпадают тяжелые кристаллы оксима (выход сырого продукта до 2,5 г), пропитанные желтым маслом. Для очистки кристаллизата последний растирается с эфиром и перекристаллизовывается в чистом виде путем прибавления абсолютного алкоголя, содержащего соляную кислоту. Выходят блестящие белые кристаллы с т. пл. 215—220°. Полученный оксим расщепляется кипячением с насыщенным на холоду раствором щавелевой кислоты, раствор сгущается в вакууме и оставляется в последнем до тех пор, пока медленно (около 24 часов) выходят иглы кристаллизата сырого гормона. Если кристаллизация затягивается, то помогает растирание продукта стеклянной палочкой в фарфоровой чашке и прибавление капли абсолютного алкоголя. Иногда, однако, продукт не выкристаллизовывается вовсе; в таких случаях после полного сгущения его в масло последнее подвергается микросублимации описанным уже для фолликулостерона способом. Устанавливается очень высокий вакуум до 0,0005 мм Hg и в температурном интервале между 65—85° идут в течение 2—3 дней кристаллы тестикулостерона, которые окончательной перекристаллизацией из водного алкоголя или ацетона идентифицируются по т. пл. 176—178° и по биологической пробе (1 НЕ=100—250). Выход чистого стерона колеблется от 600 до 800 мг.

Остается спорным один вопрос: имеется ли в таком кристаллизате, несмотря на его однородность только тестикулостерон или еще его изомеры?

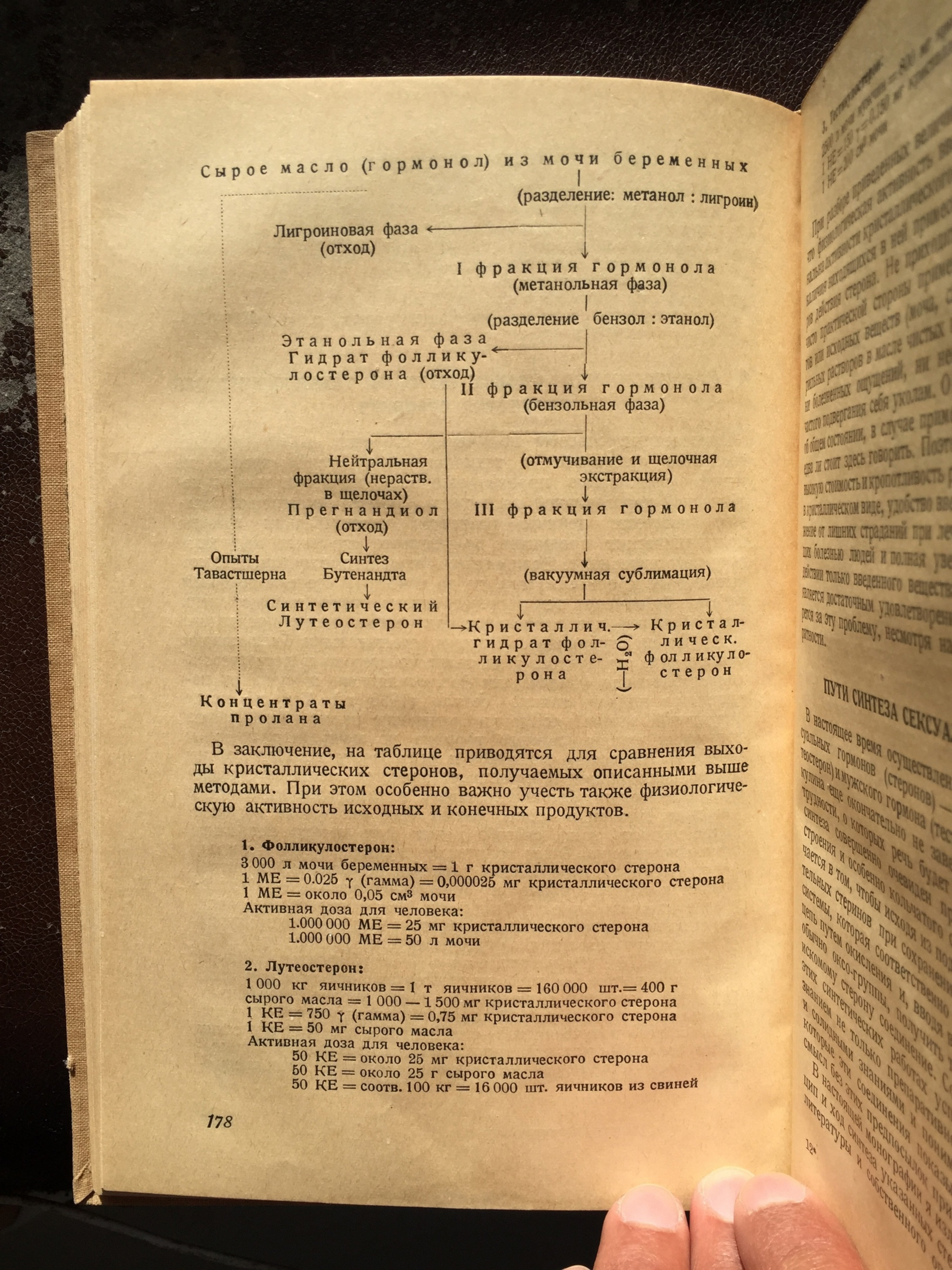
В заключение приводится схема выходов тестикулостерона и промежуточных продуктов по описанному способу его выделения.

СХЕМА ВЫХОДОВ ТЕСТИКУЛОСТЕРОНА

1. Моча мужчин=2 500 л
2. Сырое масло = 20 г
3. I фракция масла = 8,5—10,0 г
4. II фракция масла = 6,0—6,8 г
5. III фракция масла = 2,5—3,0 г
6. Оксим гормона = до 2,0 г
7. I фракция гормона = до 1 г
8. Тестикулостерон, кристалл. продукт, т. пл. 176—178°— от 800 до 600 мг

6. Сравнительная оценка методов технологического получения стеронов

Приведенные способы получения стеронов из естественных продуктов отличаются с технологической точки зрения не только сложностью производственного процесса, но и необычайной дороговизной последнего. Помимо применения больших количеств ценных реагентов нерентабельны выходы кристаллических продуктов при затрате огромных количеств исходного материала. Если оценить физиологическую активность получаемых кристаллизатов, то до известной степени подобная работа себя окупает, тем не менее, однако, стоимость будет очень высокой и широкое применение получаемых чистых препаратов будет весьма ограничено. Поэтому естественными были поиски синтеза этих продуктов. Для тестикулостерона и лутеостерона синтез блестяще удался, для фолликулярного гормона он повидимому найден только сейчас (1936 г.). Тем не менее актуальной задачей является применение изложенного метода получения фолликулярного гормона из мочи беременных к условиям заводского масштаба и рентабельности. Повидимому самым подходящим в принципе является метод получения кристаллического фолликулостерона в заводском масштабе в том виде, как он в общих чертах был мною уже изложен. Рентабельность этого способа может быть весьма повышена, если одновременно будет получаться гидрат фолликулостерона, переводимый обратной регенерацией в чистый фолликулостерон, а кроме того будет использован получающийся в виде отходов прегнандиол для синтетического получения из него лутеостерона. Проводимые в лаборатории Научно-исследовательского химико-фармацевтического Института НКТП доцентом Н. И. Тавастшерна опыты по одновременному выделению в том же технологическом процессе гонадотропных гормонов (проланы) позволили бы иметь вполне законченный, вполне себя оправдывающий по рентабельности способ заводского, массового получения полу-естественным, полу-синтетическим путем основной группы женских сексуальных гормонов. Примерная производственно-технологическая схема имеет тогда следующий вид:



В заключение, на таблице приводятся для сравнения выходы кристаллических стеронов, получаемых описанными выше методами. При этом особенно важно учесть также физиологическую активность исходных и конечных продуктов.

1. Фолликулостерон:

3 000 л мочи беременных = 1 г кристаллического стерона
1 МЕ = 0.025 γ (гамма) = 0,000025 мг кристаллического стерона
1 МЕ = около 0,05 см³ мочи
Активная доза для человека:
1.000 000 МЕ = 25 мг кристаллического стерона
1.000 000 МЕ = 50 л мочи

2. Лутеостерон:

1 000 кг яичников = 1 т яичников = 160 000 шт. = 400 г сырого масла = 1 000 — 1 500 мг кристаллического стерона
1 КЕ = 750 γ (гамма) = 0,75 мг кристаллического стерона
1 КЕ = 50 мг сырого масла
Активная доза для человека:
50 КЕ = около 25 мг кристаллического стерона
50 КЕ = около 25 г сырого масла
50 КЕ = соотв. 100 кг = 16 000 шт. яичников из свиней

3. Тестикулостерон:

2500 л мочи мужчин = 800 мг кристаллического стерона
1 НЕ = 150 γ = 0.150 мг кристаллического стерона
1 НЕ = 200 см^3 мочи

При разборе приведенных величин следует учитывать также, что физиологическая активность вводимой мочи не пропорциональна активности кристаллического чистого гормона вследствие наличия находящихся в ней примесей и возможных парализаторов действия стерона. Не приходится обсуждать, естественно, чисто практической стороны применения чистых кристаллизатов или исходных веществ (моча, сырые масла). Введение стерильных растворов в масле чистых кристаллизатов не вызывает ни болезненных ощущений, ни необходимости длительного и частого подвергания себя уколам. О болевой реакции, не говоря об общем состоянии, в случае применения мочи или ее масел — едва ли стоит здесь говорить. Поэтому, несмотря на трудности, высокую стоимость и кропотливость работ по выделению стеронов в кристаллическом виде, удобство введения их в организм, сбережение от лишних страданий при лечении без того уже страдающих болезнью людей и полная уверенность в специфическом действии только введенного вещества, — все это, мне кажется, является достаточным удовлетворением для химика, который берется за эту проблему, несмотря на все ее трудности и превратности.

ПУТИ СИНТЕЗА СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

В настоящее время осуществлен полностью синтез двух сексуальных гормонов (стеронов) — гормона беременности (лутеостерон) и мужского гормона (тестикулостерон). Синтез фолликулина еще окончательно не завершен и представляет особые трудности, о которых речь будет итти ниже. Общий принцип синтеза совершенно очевиден при рассмотрении химического строения и особенно кольчатого скелета стеронов. Дело заключается в том, чтобы исходя из подходящих животных или растительных стеринов при сохранении основного ядра — кольчатой системы, которая соответственно защищается, оторвать боковую цепь путем окисления и, вводя в нее те или иные группировки, обычно оксо-группы, получить таким образом соответствующее искомому стерону соединение. Совершенно естественно, что при этих синтетических работах успех определяется прежде всего знанием не только препаративной химии стеринов вообще, но и солидными знаниями и пониманием тех реакций и свойств, которые эти соединения показывают. Поэтому едва ли имеет смысл без этих предпосылок приступать к подобным работам.

В настоящей монографии я изложу достаточно подробно принцип и ход синтеза указанных стеронов на основании имеющейся литературы и собственного опыта по этому вопросу. Входить

же в разбор общих вопросов химии стеринов, на свойствах и поведении которых, как было сказано, эти синтезы покоятся, не представляется возможным, тем более что интересующиеся могут почерпнуть сведения по этому поводу из другой монографии, посвященной химии холестерина (Ремезов). На этом основании я ограничусь лишь некоторыми специальными замечаниями, которые будут касаться вопросов методики этих синтезов и которые затронут поведение стеринов, главным образом относительно действия окислителей.

1. Общие методические замечания по синтезу стеронов

Основные затруднения по ходу синтезов заключаются в сущности в трех моментах: 1) в осуществлении отрыва боковой цепи у стеринов как в определенном месте, так в особенности в той степени, которая диктуется синтезом; очень легко слишком сильно окислить, в результате чего получается разрыв колец и образование кислых продуктов (дикарбоновые кислоты), или, наоборот, недоокислить и получить смолы неопределенного состава, не поддающиеся кристаллизации. Здесь поэтому требуется самое щепетильное знакомство с реакциями окислений стеринов, которые проводились Виндаусом, Виландом и их школой, а также новыми работами Ружика, Чеше и Бутенандта. В перечне литературы наиболее нужные для преследуемых здесь целей работы указанных авторов мною приведены; 2) следующим затруднением следует считать как частный случай окислений озонирование стеринов, получение озонидов, которые отвечали бы ожидаемым продуктам, ибо при этой реакции не всегда имеет место совпадение теоретического расчета с результатами опыта; на этом вопросе я остановлюсь поэтому подробнее; 3) наконец, последний момент затруднений лежит в кристаллизации продуктов как конечных, так иногда и промежуточных. Здесь следует вооружиться не только самыми разнообразными способами выделения кристаллизатов, о чем уже частично упоминалось при изложении способов выделения естественных стеронов в кристаллическом состоянии, но также и максимальным терпением, настойчивостью и изобретательностью.

На некоторых общих чисто эмпирических правилах, касающихся затронутых здесь вопросов, я позволю в самых сжатых чертах остановиться.

Прежде всего относительно окислений стеринов вообще. Общее и по существу не имеющее пока исключений правило при работе со всеми видами стеринов сводится к правилу Виндауса-Дальмера, по которому при окислении боковой цепи или отдельных колец холестерина необходимо основательно защитить кольца А и В как наиболее уязвимые: присоединение брома защищает кольцо, содержащее двойную связь, а ацетилирование вторичной алкогольной группы защищает

кольцо, ее содержащее. Поэтому практически всякое окисление стеринов, связанное с принципиальным сохранением их кольчатого скелета, должно начинаться с их бромирования и ацетилирования обычными в препаративной химии стеринов методами. После того как этот этап пройден, ведут окисление, причем избирательное окисление по месту двойной связи (например в боковой цепи) обычно ведется с помощью озонирования, слабое окисление преимущественно для целей либо частичного дегидрирования скелета, либо окисления боковой цепочки, достигается перманганатом. Сильное окисление достигается применением хромового ангидрида (CrO_3), причем здесь чрезвычайно важно помнить, что этот род окисления имеет различную глубину в зависимости от того, ведется ли он на холоду или при нагревании. Последний вид окисления часто ведет к подрыву кольчатого скелета. В большинстве методов синтеза стеронов окисление хромовым ангидридом идет при слабом нагревании, чем достигается, в зависимости от длительности процесса, тотальный отрыв боковой цепи с частичным дегидрированием кольчатого скелета.

Важно поэтому знать найденную чисто эмпирически продолжительность окисления и пропорции окислителя.

Переходя к озонированию, нужно отметить, что присоединение озона к холестеридам и растительным стеринам не всегда дает ожидаемые результаты. Получаются озониды следующих типов:

$$C_{27}H_{46}O + O_3$$
$$C_{27}H_{46}O + O_4$$
$$C_{27}H_{46}O + 2\,O_4$$
$$C_{27}H_{46}O + 2\,O_3$$

Аномальные озониды мало изучены и получаются при длительном озонировании в тепле. Важным фактором является дальнейшая обработка озонидов — растворение их на холоду или при нагревании. В последнем случае часто получаются смолы, выкристаллизовать которые невозможно. Озонирование без охлаждения ведет чаще к аномальным озонидам типа $C_{27}H_{46}O \cdot 2\,O_3$, которые в дальнейшем освободить от растворителя не удается. Поэтому длительность, сила струи озона и вопросы температуры представляют также те эмпирические сведения, которые определяют удачу синтеза. Вообще для контроля рекомендуется определить в аликвотной части число озона (Ozonzahl). Для стигмастерина оно соответствует двум двойным связям=24,84 ($C_{27}H_{46}O \cdot 2\,O_3$), а для холестерина — одной двойной связи = 12,4 — 16,5 ($C_{27}H_{46}O \cdot O_3$ или O_4). Очистка озонидов от следов растворителя, по моим личным наблюдениям, лучше всего достигается струей горячего сухого воздуха (45 — 50°). Особенно надо беречься обработки озонидов гексаном, циклогексаном, диоксаном, что ведет в слу-

чае холестерина к некристаллизующимся, почти нерастворимым полимерам.

В заключение несколько слов о кристаллизации продуктов синтеза. Наиболее себя оправдывают способы дробной кристаллизации и особенно медленной кристаллизации. Обычно смолы, обработанные предварительно углем в экстракторе (рис. 79), сгущенные и оставленные в вакууме на длительное время, сами постепенно выкристаллизовываются. Иногда это ускоряется грением стеклянной палочкой или прививкой кристалла. К микросублимации следует прибегать, по сравнению с изложенными выше способами, в исключительных случаях.

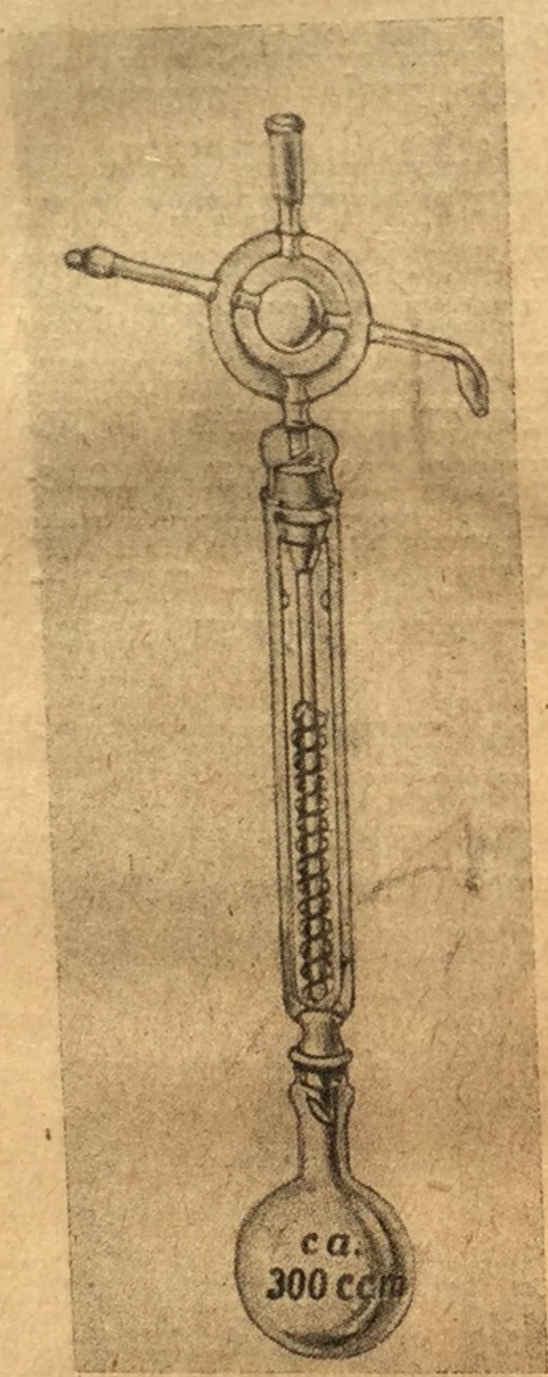


Рис. 82. Экстракционный аппарат для работ по экстракции жидкостей и масел.

В чисто препаративном отношении нужно указать на необходимость весьма тщательной очистки получаемых исходных продуктов (растительных или животных стеринов), причем экстракцию холестерина, фитостеринов (из твердых сред) лучше всего проводить в аппарате Френкеля (рис. 80) с соблюдением правил, подробно изложенных в работах Виндауса и монографии автора по химии холестерина. В случае, если экстракцию стеринов необходимо вести из жидкого материала — особенно из масел, наилучшие результаты дает тип экстракционного аппарата для жидкостей, приведенный на рис. 82.

Одним из условий успеха проводимого синтеза является безукоризненность в химическом смысле (острая точка плавления, однородность) исходного стерина. При ведении синтеза рекомендуется осуществление отдельных этапов без перерывов, так как иногда сырые продукты легко окисляются при длительном оставлении их без дальнейшей обработки и этим приводят синтез к неудачному концу. Это обстоятельство здесь я особо подчеркиваю, так как легкость стеринов изменять свои свойства под влиянием кислорода воздуха и света, недостаточно известна и особенно должна быть учтена.

2. Синтез лутеостерона

Здесь приводится синтез по трем путям, дающим различные выходы кристаллического продукта синтетического стерона.

Каждый из способов имеет свои недостатки и достоинства. Я лично считаю наиболее выгодным для широкого практического применения в связи с добыванием фолликулостерона метод, предложенный Бутенандтом, исходным материалом в котором является «стерин беременности», выделяемый из мочи беременных в качестве отхода при получении фолликулостерона — прегнандиол. Наибольший теоретический интерес для биохимии стеронов и изучения путей образования лутеостерона из холестерина в животном организме представляет, по моему мнению, способ синтеза, найденный Н. И. Тавастшерна.

По характеру исходного материала методы синтеза лутеостерона можно разделить на две группы: группу методов синтеза из растительных стеринов и группу методов, где исходным материалом являются животные стерины. В таком порядке и будет проведено изложение.

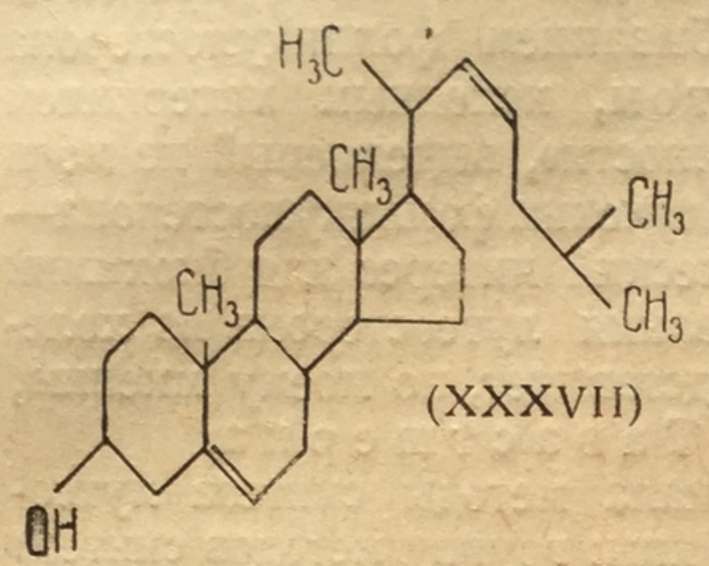
а) СИНТЕЗ ЛУТЕОСТЕРОНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ СТЕРИНОВ (СТИГМАСТЕРИНА) — тип синтеза Бутенандта

Принцип синтеза заключается в том, что в стигмастерине (XXXVII) (растительный стерин, содержащийся в масле соевых бобов, бобов какао, кокосовых бобов), имеющем тот же, что и гормон, кольчатый скелет, путем перевода в оксибиснор-холеновую кислоту (XXXVIII) укорачивается боковая цепь (озонирование бромида стигмастерина избирательно отщепляет боковую цепь по месту находящейся там двойной связи). Посредством синтеза по Гриньяру получается физиологически еще недеятельный оксикетон $C_{21}H_{32}O_2$ (XL) отличающийся от гормона (дикетона) только наличием вторичной алкогольной группы и положением двойной связи в β-γ-положении. Осторожное окисление перманганатом приводит к дикетону $C_{21}H_{30}O_2$ (XL[1]) представляющему собой гормон беременности — лутеостерон. Соответствующие этапы синтеза приведены на схеме (I).

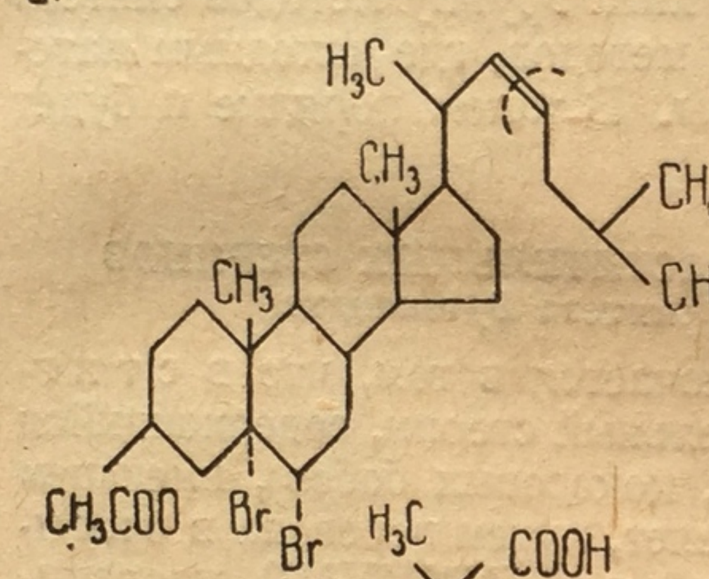
Ход синтеза по этапам проводится следующим образом:

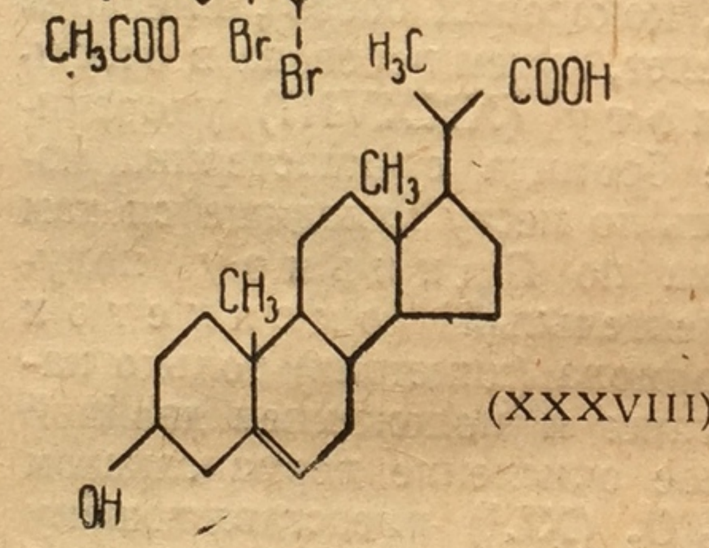
I. Выделение фитостерина. На 1 кг масла-какао (или другого растительного масла) берется 2 л алкогольного раствора едкого калия (200 г КОН на 1000 см³ 70° этилового алкоголя), смесь помещается в 5-литровую колбу и с обратным холодильником омыляется на кипящей водяной бане при постоянном помешивании содержимого колбы. После того как смесь стала совершенно прозрачной, омыляется еще около 1 часа, содержимое колбы время от времени перемешивается. Теплый раствор мыл переливается в делительную воронку, куда предварительно было прилито 3 л дестиллированной воды. Колба, содержавшая мыла, ополаскивается от остатка мыл еще 3 л воды, которые вносятся в ту же делительную воронку. Когда раствор мыл совершенно остыл, в воронку приливается

Принципиальная схема синтеза (1)

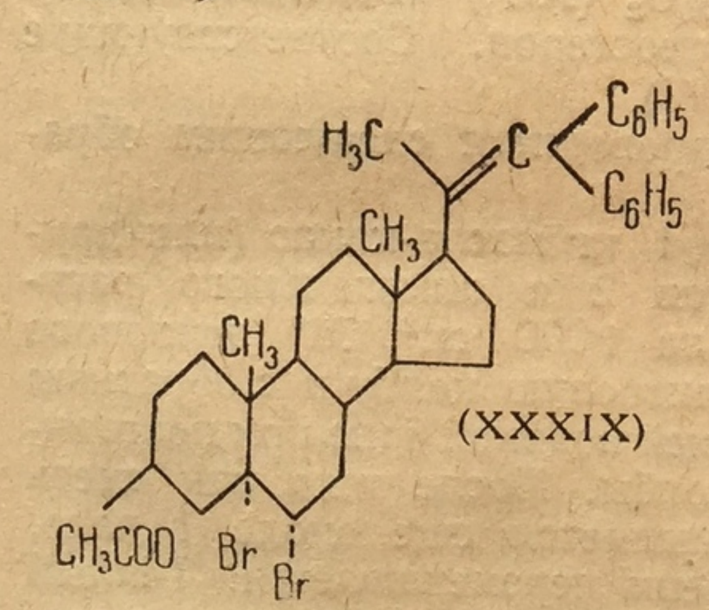


(XXXVII)



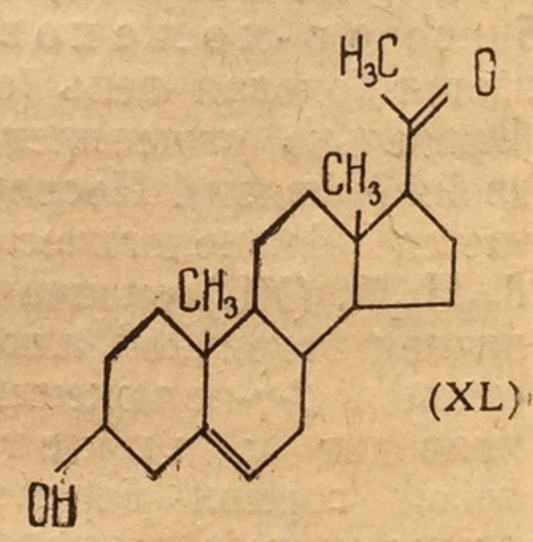


(XXXVIII)

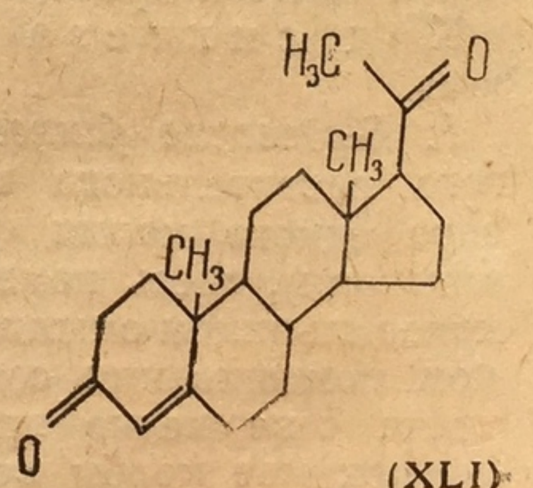


(XXXIX)

8 л эфира и проводится экстракция в течение 15 минут. Эфирный слой приобретает слабо желтый оттенок. Делительная воронка оставляется для отделения эфирного и водно-алкогольного слоев (отстой около часа). Когда отстоявшиеся слои совершенно прозрачны, эфирный слой отделяется и переносится в колбу Вюрца (фракция I). К оставшимся в делительной воронке растворам мыл приливается 4 л эфира, экстракция 15 минут, отстаивание 1 час, эфирный слой переносится в колбу Вюрца и соединяется с фракцией 1. К оставшимся в воронке мылам снова приливается 4 л эфира, проводится экстракция 15 минут,



(XL)



(XLI)

отстаивание $^1/_2$ часа и эфирный слой присоединяется к фракциям I и II. Раствор мыл более не нужен.

Соединенные эфирные фракции I, II, III находящиеся в колбе Вюрца, помещаются на водяную баню и проводится отгон эфира.

Примечание. Весь отогнанный эфир переносится в делительную воронку, промывается трижды $^1/_3$ объема дестиллированной воды, просушивается безводным хлористым кальцием и отгоняется еще один раз. Очищенный таким путем эфир снова годен для экстракции.

После отгона эфира в колбе Вюрца получается остаток сырого фитостерида (смесь сито-и стигмастерина), содержащий алкоголь. От последнего остаток необходимо освободить, для чего колба погружается в кипящую водяную баню, на дно колбы опускается трубка, через которую прогоняется сильная струя воздуха (воздуходувка или водоструйный насос). Через 3—4 часа при ра боте с обычным водоструйным насосом осадок сухой. Полученная сухая масса желтоватого цвета дает выход около 50 г. После этого предпринимается вторичное омыление, для чего к остатку приливается 100 см³. того же алкогольного раствора КОН, и с обратным холодильником проводится омыление на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После окончания омыления содержимое колбы выливается в делительную воронку, колба промывается 250 см³. дестиллированной воды, сливаемой в воронку, и после остывания раствора мыл проводится трехкратная экстракция эфиром — по 2 л эфира на экстракцию, как было описано выше.

Примечание 2. При экстракции после вторичного омыления жидкость в делительной воронке иногда разделяется не на два, а на три слоя. В таком случае прибавление 100 — 200 см³. воды к смеси и взбалтывание несколько раз дает разделение жидкости на два слоя.

После промывки эфирный раствор отфильтровывается через беззольный фильтр для удаления следов воды и отгоняется в колбе Вюрца на водяной бане. В остатке—буроватая влажная масса, не пахнущая спиртом или эфиром, представляющая собой фитостерин. После просушки воздухом остаток растворяется в небольшом количестве абсолютного эфира (около 50 см³.) и выливается количественно в фарфоровую выпарительную чашку. Эфир подвергается испарению на воздухе (ентилятор), в результате чего остается сухая масе фитостерина.

Выход серого фитостерина составляет 26,4 г.

II. Выделение стигмастерина. Разделение ситостерина и стигмастерина в фитостерине производится по принципу Виндауса: 20 г исходного высушенного фитостерина (т. пл. колеблется от 131 до 144°) растворяется при нагревании в 40 г ангидрида уксусной кислоты, после чего ацетилируется с обратным холодильником на кипящей водяной бане 1 час. Горячий раствор выливается в охлажденную до 8—10° дестиллированную

воду, причем сразу же выпадает объемистый осадок ацетата фитостерина. Осадок отсасывается на Бухнере, промывается дважды, дестиллированной водой, обсушивается между листами фильтровальной бумаги и помещается в вакуумэксикатор на 12 часов для сушения. Выход составляет 26,6 г ацетата. 20 г сухого ацетата фитостерина растворяется в 200 см³ абсолютного эфира и осаждается при комнатной температуре 250 г бром-уксусной смеси. Медленно выпадают мелкие кристаллы стигмастерин-бромида. Раствор должен стоять при комнатной температуре (16—20°) не менее 12 часов, лишь тогда осаждение закончено нацело. Осадок отфильтровывается осторожно через смоченный водою фильтр, промывается на фильтре один раз водой, просушивается воздухом, отжимается между листами фильтровальной бумаги и высушивается в вакуумэксикаторе над $CaCl_2$. Выход сухого стигмастерин-бромида составляет 6,6 г. При перекристаллизации из горячего бензола, содержащего $^1/_3$ объема абсолютного алкоголя, получаются белоснежные листочки с т. пл. около 212° (разлагается). 6,5 г стигмастерин-бромида растворяется при нагревании в 300 см³ ледяной уксусной кислоты, прибавляется 6 г цинковой пыли и смесь кипятится с обратным холодильником на умеренном огне. Горячий раствор отфильтровывается через тонко-волокнистый асбестовый фильтр и к прозрачному фильтрату приливается по каплям холодная вода до появления мути, не изчезающей от следующей капли воды. По стоянии в течение 6 часов оседает кристаллический осадок ацетатастигмастерина.

Осадок отфильтровывается один раз, перекристаллизовывается из горячего 80° алкоголя. Полученный препарат имеет т. пл. 141° и дает выход 3,4 г

Примечание 3. В отдельной порции, для контроля, выделяется из ацетата стигмастерина чистый стигмастерин (омыление 50% алкогольным р. КОН в течение 2 часов). Препарат после перекристаллизации дает т. пл. от 168 до 170°, выход — около 30%.

III. Выделение окси-бис-нор-холеновой кислоты. 12 г ацетата стигмастерина растворяется в 200 см³ абс. хлороформа и охлаждается во льду до —2°, после чего вливается тонкой струей хлороформный раствор брома (4,2 г брома на 100 г хлороформа). После хорошего смешения раствора при постоянном охлаждении льдом начинается пропускание озона в течение 6 часов беспрерывно. По окончании озонирования, бром-хлороформная смесь отгоняется в высоком вакууме при помощи масляного насоса (вакуум около 0,01 мм). В остатке прозрачная, слабо желтоватая смола при нагревании со слабым треском разлагается. Остаток просушивается струей воздуха при комнатной температуре, после чего растворяется осторожно

на теплой водяной бане (около 40—50°) прибавлением 200 см³ ледяной уксусной кислоты. После полного растворения смолы прибавляется цинковая пыль и с обратным холодильником смесь нагревается на кипящей водяной бане до тех пор, пока раствор не примет коричневой окраски, что отнимает около 2 часов. После охлаждения смеси, она разводится $^1/_2$ объемом дестиллированной воды, отфильтровывается от цинка и переносится в делительную воронку, где дважды экстрагируется по 30 минут с абсолютным эфиром (по 500 см³ эфира).

Эфирный раствор содержит ацет-окси-бис-нор-холеновую кислоту; после отделения эфира к нему прибавляется одинаковый объем 2-нормального водного раствора едкого натра, сильно встряхивается и оставляется стоять около 3 часов, выделяется волюминозный осадок натриевой соли кислоты. Декантацией сливается раствор, к осадку прибавляется 5-нормальный водный раствор H_2SO_4 до полного растворения. Полученный раствор слегка буроватого цвета переносится в делительную воронку и экстрагируется дважды по 250 см³ эфира по 15 минут на шюттель-машине. Соединенные эфирные растворы встряхиваются с щепоткой животного угля, отфильтровываются, эфир отгоняется испарением на воздухе (вентилятор). Остаток — полусмолистая масса, из которой при стоянии при комнатной температуре, при трении стеклянной палочкой и прибавлении капельки ацетона выкристаллизовывается ацетокси-бис-нор-холеновая кислота.

После перекристаллизации из ацетона выходят листочки кислоты ст. пл. около 234°; выход — около 1,7 г ацетокси-бис-нор-холеновой кислоты, которая кипятится в колбе с обратным холодильником с 100 см³ 5% алкогольного раствора КОН на водяной бане в течение 1 часа. После омыления теплый раствор нейтрализуется прибавлением по каплям 5-нормального раствора HCl, при этом начинает выпадать осадок кристаллов окси-бис-нор-холеновой кислоты. После доведения реакции до нейтральной, раствор оставляется стоять примерно час, после чего отфильтровывается через беззольный фильтр; осадок промывается один раз водою, просушивается воздухом и переносится в эксикатор. Полученная сухая кислота в виде листочков дает без перекристаллизации т. пл. 293—294° с разложением; выход — около 0,6 г.

IV. Выделение оксикетона $C_{21}H_{32}O_2$: 800 мг совершенно сухой окси-бис-нор-холеновой кислоты суспендируются в абсолютном метаноле и осаждаются медленно 2% эфирным раствором диазометана при постоянном охлаждении льдом. Раствор диазометана приливается до тех пор, пока не прекратится выделение газа и раствор не окрасится в желтоватый цвет. Смесь оставляют стоять 6 часов, закрыв насадкой, содержащей безводный $CaCl_2$. Выделившийся осадок метилэстера окси-бис-нор-холеновой кислоты отфильтровы-

вается и высушивается в вакуум-эксикаторе в течение 12 часов. Листочки с т. пл. 140°; выход — около 1080 мг.

Синтез по Гриньяру. В колбу Клайссена помещается 1 г метилового эстера окси-бис-норхоленовой кислоты, растворенного в 75 см³ абсолютного, обезвоженного эфира, прибавляется 1,95 г металлического магния (порошка), после чего колба плотно закрывается пробкой с обратным холодильником и делительной воронкой, в которую вливается раствор 12,6 гр бромбензола в 75 см³ абсолютного эфира. Приливается из делительной воронки при весьма энергичном взбалтывании содержимого колбы, сначала $^1/_4$ объема раствора бром-бензола. Через несколько минут вскипает эфир и начинает растворяться магний. Реакция быстро проходит. Тогда колба с обратным холодильником ставится в водяную баню, после чего реакция снова начинается. После заметного наступления реакции медленно приливается остальной бром-бензол из делительной воронки, с таким расчетом, чтобы весь раствор его был прилит в течение 1 часа. Смесь держится на водяной бане около 3 часов, в течение которых наступает конец реакции, который определяется тем, что весь магний почти нацело растворился.

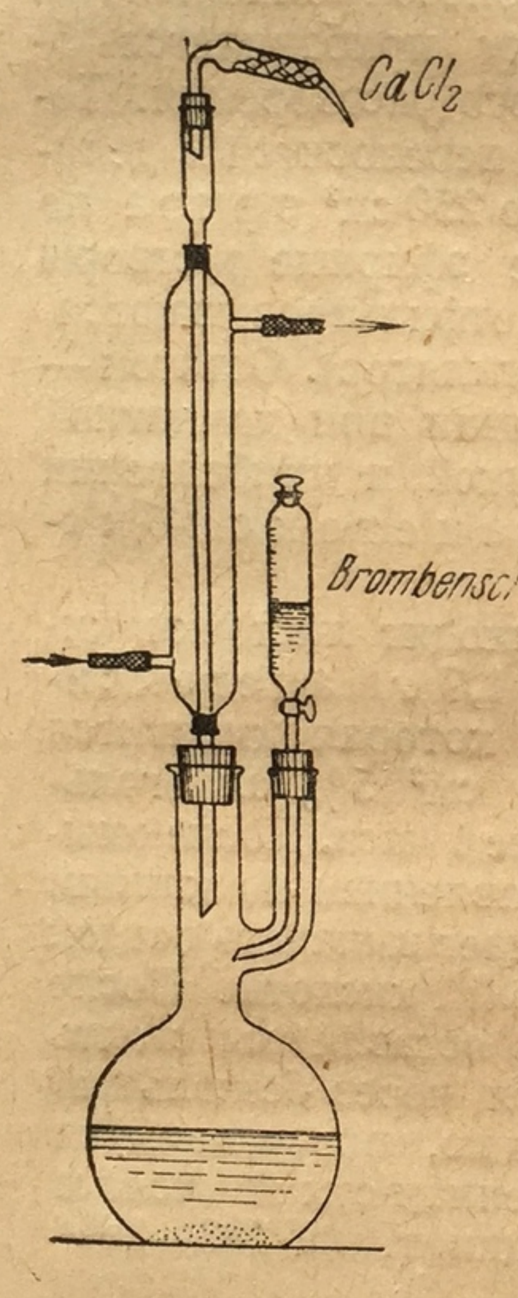


Рис. 83. Схема установки для проведения реакции Гриньяра при синтетическом получении лутеостерона из растительных стеринов.

Вся установка для реакции показана на приводимом ниже рисунке 83.

Примечание 4. Условия успеха изложенной реакции Гриньяра зависят от отсутствия следов влаги. Все реактивы, посуда, исходный препарат должны быть тщательно освобождены от воды. В течение реакции должно быть полное отсутствие воды в реагирующей смеси. Метанол, эфир, бром-бензол должны быть абсолютными, совершенно обезвоженными.

После окончания реакции в колбу вместо холодильника вставляется дефлегматор и в вакууме отгоняется эфир при комнатной температуре. Остаток в колбе нагревается с обратным холодильником на сильно кипящей водяной бане в течение 10 часов подряд. Затем колба снимается с бани, быстро охлаждается снаружи, сначала охлажден-

ной водой, потом льдом, и сразу внутрь в содержимое колбы бросается 25—30 г чистого льда. Охлаждая колбу снаружи беспрерывно прибавляют разведенную (1:1) соляную кислоту до слабокислой реакции (на лакмус). Затем к смеси приливают тот же объем эфира и, закрыв колбу пробками, производят однократную экстракцию до тех пор, пока эфир не окрасится в желтый цвет. Эфирный слой отделяется, а водный еще раз экстрагируется, как было указано, эфиром. Обе эфирные фракции соединяются вместе и в широкой фарфоровой чашке оставляются при комнатной температуре для свободного испарения эфира (вентилятор). Результирует коричневое смолистое масло дифенил-карбинола. Растворением масла в минимальном нужном для этого количества эфире оно переносится в колбу, откуда эфир отгоняется в вакууме, после чего производится отгонка из масла следов дифенила дестилляцией с водяным паром в течение 3 часов. К остатку масла прибавляется 100 см^3 8% раствора KOH в метаноле, смесь нагревается на водяной бане до кипения. После закипания смесь снимается с бани, оставляется полностью остыть, прибавляется 5-нормальный раствор серной кислоты до слабокислой реакции (на конго) и еще раз проводится перегонка с водяным паром в течение $1^1/_2$ часов для окончательного удаления следов дифенила.

Остаток масла принимается в эфир, с которым дважды экстрагируется по $^1/_2$ часа. Обе эфирные фракции, отделенные от водного раствора масла, соединяются, переносятся в делительную воронку и трижды промываются взятым в половинном объеме 2-нормального раствора NaOH для нейтрализации. Эфирный раствор должен быть нейтральным. После отделения его, дважды промывается водою, отфильтровывается от следов воды, прибавляется щепотка животного угля, кипятится на водяной бане, после чего отфильтровывается и эфир удаляется свободным испарением (вентилятор). Остаток буроватого цвета растворяется в ледяной уксусной кислоте и нагревается до закипания. Тогда смесь снимается с бани, уксусная кислота отгоняется в вакууме, а оставшаяся смолистая стекловидная масса подвергается фракционированной перегонке в высоком вакууме: до 180—190° идет отгон маслянистого вещества (около 6 часов, вакуум 0,001 мм), при 270—280° идет главная фракция в виде светложелтой стекловидно застывающей маслянистой массы (около 16 часов при вакууме 0,001 мм Hg). Главная фракция (270—280°) смывается 1—2 см^3 ангидрида ледяной уксусной кислоты и нагревается на огне около 15 минут до момента начинающегося закипания. Тогда в нее вливается по каплям абсолютный алкоголь до появления кристаллического осадка. При оставлении смеси после ее охлаждения (30—60 мин.) выкристаллизовываются игольчатые кристаллы сырого продукта. Не перекристаллизованный продукт показывает т. пл. от 192 до 202°. Выход — около 506 мг.

Сырой продукт с т. пл. до 202° растворяется в абсолютном хлороформе, раствор охлаждается льдом до — 2° и при постоянном охлаждении каплями прибавляется раствор брома в абсолютном хлороформе. После тщательного перемешивания раствора, охлаждая его постоянно льдом с солью до —2°, пропускают слабый ток озона не более 30 минут. По окончании озонирования хлороформ отгоняется свободным испарением (вентилятор), сухой остаток растворяется в 10 см³ ледяной уксусной кислоты при самом слабом нагревании, прибавляется 1 г цинковой пыли и очень осторожно нагревается на водяной бане от 15 до 30 минут.

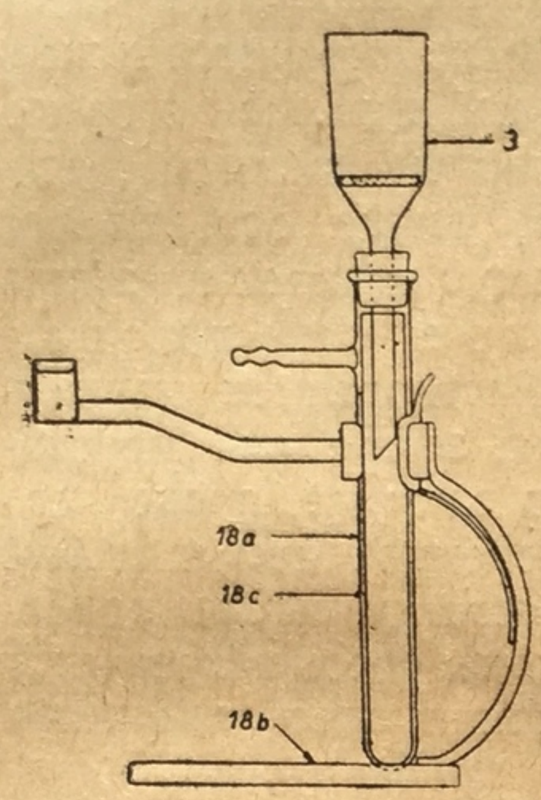


Рис. 84. Схема установки для микрофильтрации с порозными микрофильтрами иенского стекла при выделении кристаллизатов в синтезе лутеостерона.

Примечание 5. Редукция цинковой пылью должна вестись осторожно: если идет слишком бурное выделение газа, нагревание уменьшить и реакцию закончить через 10—15 минут, при умеренном выделении газа — довести до 30 минут. Чрезмерная редукция ведет к разрушению карбонильных групп и разложению кетона.

По окончании редукции раствор разводится половинным объемом воды, отфильтровывается от цинка и переносится в делительную воронку, где экстрагируется эфиром (по 500 см⁴) дважды на шюттель-машине по 30 минут. Эфирные фракции, слабо окрашенные в желтоватый цвет, соединяются, промываются дважды половинным объемом 2-нормального раствора NaOH, затем дважды — водой, отфильтровываются и после прибавления щепотки животного угля кипятятся около 15 минут. Отфильтрованный от угля эфир собирается в широкой кристаллизационной чашке и удаляется свободным испарением (вентилятор). В остатке — желтоватая смола, пронизанная кристаллами в виде игл, представляющая собою ацетат оксикетона. Высушенная в вакумэксикаторе она выкристаллизовывается в виде игл, показывающих т. пл. 144—146° (без перекристаллизации). Выход — около 340 мг. Кристаллический продукт подвергается омылению на водяной кипящей бане с 3-нормальным раствором KOH в метаноле в течение 1 часа.

После остывания смесь осаждается 5-нормальным раствором HCl до появления мути — осадка — и доводится до нейтральной реакции (на конго). Оставляется стоять около 6 часов, в осадке — длинные иглы, которые отфильтровываются на микрофильтре

(рис. 84), один раз промываются водою и перекристаллизовываются из 60° алкоголя. Выход около 302 мг. т. пл. 188°.

Примечание 6: Выделение оксикетона из ацетата путем омыления следует сначала провести с одной порцией вещества. Если удается получить муть и выделение осадка, можно весь препарат пустить в обработку этим путем. Иначе необходимо вести более сложное выделение оксикетона из его ацетата через семикарбазон. Последнее проводится по прописи Бутенандта следующим образом: ацетат растворяется при нагревании в 95° алкоголе, кипятится один раз и осаждается избытком уксуснокислого раствора семикарбазида, после чего приливается холодная вода до выпадения игл семикарбазона (т. пл. 240 — 250°). Осадок семикарбазона растворяется в алкоголе, кипятится с 5-норм. H_2SO_4, разводится водой и принимается в эфир, откуда свободным испарением эфира выделяются кристаллы оксикетона $C_{21}H_{32}O_2$ с острой т. пл. в 189—190°. Выход из 50 мг семикарбазона 40 мг оксикетона.

V. *Выделение гормона — дикетона* $C_{21}H_{30}O_2$. 200,0 мг оксикетона, т. пл. 188° растворяется в 20 см³. безводного хлороформа и при охлаждении раствора льдом до 0° тонкой струей прибавляется при энергичном помешивании раствора раствор брома в хлороформе.

Смесь оставляется стоять во льду около 15 минут, после чего в вакууме отгоняется растворитель. В остатке—прозрачная смола, которая растворяется в 10 см³ безводного бензола. Бензольный раствор осаждается 15 см³ 5% водного раствора перманганата калия и 5 см³. 20% водного раствора серной кислоты и встряхивается в течение 6—8 часов на шюттель-машине. Смесь принимает грязнобурый цвет, к ней прибавляется по каплям раствор сернистой кислоты до полного обесцвечивания. После полного отстаивания бензольный слой отделяется. Водный слой экстрагируется один раз абсолютным эфиром, который присоединяется к бензольной фракции. Эфирно-бензольный раствор, содержащий дикетон (стерон), осаждается ледяной уксусной кислотой, к нему прибавляется цинковая пыль, и на водяной бане он подвергается дестилляции с холодильником. Остаток осаждается I см³ дестиллированной воды и доводится один раз до кипения на водяной бане. Если выделение газа очень сильно, то следует прогревать не более 5 минут. По окончании редукции и охлаждения смеси прибавляется двойной объем абсолютного эфира и экстрагируется в течение 30 минут, пока эфир не примет бледножелтой окраски. Смесь отфильтровывается от цинка в делительную воронку, где отстаивается. После полного отделения слоев эфирный раствор отделяется,

промывается один раз 2-нормальным раствором едкого натра для нейтрализации кислых продуктов, промывается водой, отфильтровывается и оставляется для свободного испарения эфира при комнатной температуре (вентилятор).

В остатке — смола, пронизанная кристаллами, представляющая смешанные полиморфные кристаллические формы дикетона $C_{21}H_{30}O_2$. Выход смолы—около 100 мг.

Главные затруднения представляет выделение кристаллов из смолы. Для этой цели смола разделяется на две части, каждая из которых обрабатывается отдельно для получения кристаллов тем или иным путем.

1-й путь выделения кристаллического дикетона $C_{21}H_{30}O_2$. Смола кипятится не более 10 минут. с 2 см³ ангидрида уксусной кислоты, после чего осаждается водою, кипятится еще один раз около 15 минут для разрушения ангидрида, уксусно-водный раствор отгоняется в вакууме и смола растворяется в небольшом количестве метанола. Раствор в метаноле сгущается в вакуумэксикаторе, в результате чего частично выделяются кристаллы дикетона в виде призмочек. Выход—около 20 мг. (из 100 мгр смолы); в не перекристаллизованном состоянии т. пл. не резкая, около 110—114°. Растворяются кристаллы легко в метаноле, этаноле, эфире и плохо—в петролейном эфире.

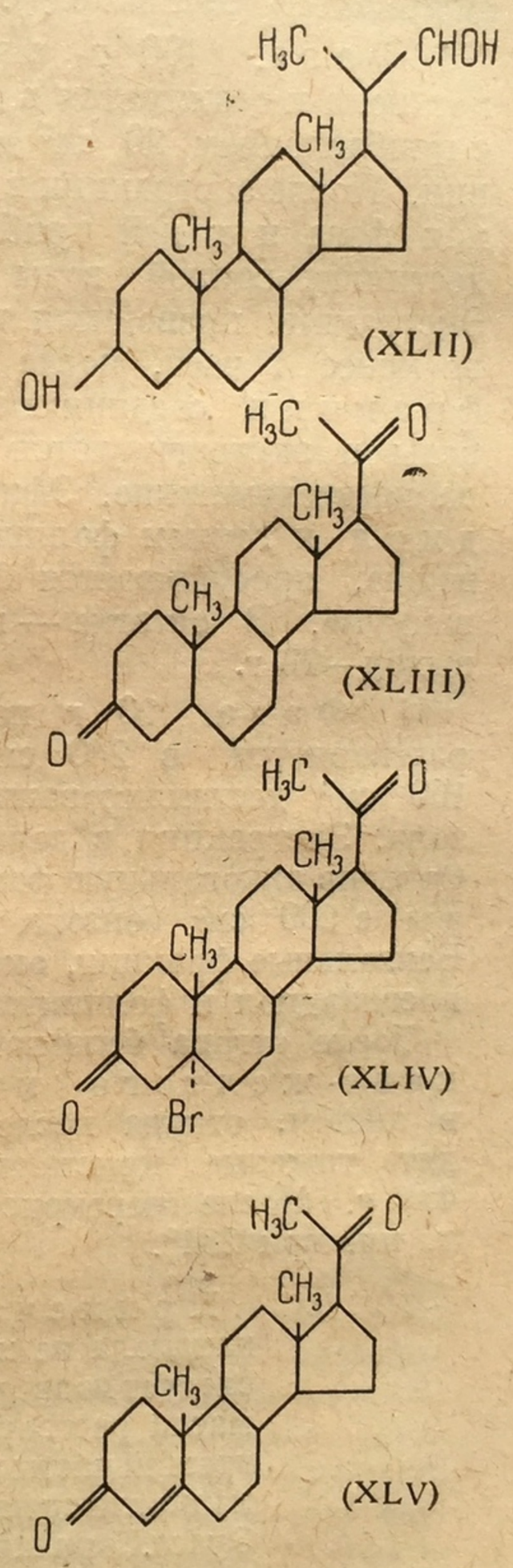
При перекристаллизации трижды из метанола (потеря вещества около 5%) получается кристаллический продукт с т. пл. 128—129°, представляющий собой дикетон $C_{21}H_{30}O_2$ (C=80,2 H=9,62 по теории).

2-й путь выделения кристаллического дикетона. Смола подвергается микросублимации (рис. 78) при высоком вакууме от 0,002 до 0,001 мм. Hg. Первоначальный нагрев до 120—129°—идет отгон масла в течение 6 часов. Через 6 часов отгон прерывается, масло смывается эфиром из насадки сублиматора. Реторта с остатком смолы подвергается весьма медленной сублимации в течение 42 часов подряд, поднимая последовательно температуру в следующих интервалах: 129—135° в течение 24 часов (идет частично пронизанное кристаллами масло); 136—140° в течение 18 часов (выделяются окрашенные ромбические кристаллы, особенно в горлышке реторты сублиматора). Кристаллы смываются струйкой холодного абсолютного эфира. После испарения эфира кристаллы дают т. пл. 124—128° (без перекристаллизации). Выход из 100 мг смолы до 18 мг кристаллического вещества в интервале указанных температур.

Примечание 7. Выделение дикетона $C_{21}H_{30}O_2$ из оксикетона может быть проведено по прописи Бутенандта путем дегидрирования оксикетона окисью меди CuO. 500 мг совер-

шенно сухого оксикетона нагреваются в реторте с 15 г измельченного CuO на масляной или солевой бане до 310° в течение 20 минут. Реакция считается законченной после прекращения выделения газа и прекращения бурно идущей реакции. Вещество отгоняется в высоком вакууме (0,0001 мм) дважды, отгон (до 65%) растворяется в метаноле, и после сгущения раствора в него прививают стандартный, уже имеющийся в распоряжении дикетон $C_{21}H_{30}O_2$ ст. пл. 129°. Через несколько дней наступает медленная кристаллизация дикетона в количестве до 200 мг.

Принципиальная схема синтеза (2)



б) СИНТЕЗ ЛУТЕОСТЕРОНА ИЗ ЖИВОТНЫХ СТЕРИНОВ

Синтез из прегнандиола по Бутенандту.

Принцип синтеза заключается в том, что из гормонола (сырого масла мочи беременных) выделяется прегнандиол, кольчатый скелет которого идентичен скелету гормона, но боковая цепь содержит алкогольную группу; окислением хромовой кислотой получается соответствующий насыщенный дикетон — прегнандион (XLIII) боковая цепь и скелет которого соответствуют формуле гормона беременности. Бромирование прегнандиона приводит к дибромиду дикетона $C_{21}H_{30}O_2$ (XLIV) и отсюда с легкостью получается гормон (XLV) в кристаллическом виде. Принцип и ход синтеза принадлежат Бутенандту и отличаются своим изяществом и доступностью, а так же рентабельностью выходов гормона.

Ход синтеза проводится по этапам следующим образом.

I. Выделение прегнандиола. Обработка совпадает с методом выделения кристаллизата естественного женского полового гормона — фолликулина из мочи беременных.

Исходным продуктом является сырое масло (гормонол), представляющее собой эфирно-растворимые фракции из мочи беременных, получаемые в СССР заводским путем на заводе «Фармакон» (Ленинград).

I Фаза. 100 г сырого масла растворяется в 600 см³ метанола и осаждается в делительной воронке 100 см³ лигроина с прибавлением 20 см³ дестиллированной воды при встряхивании. После экстракции в течение 30 минут отделяется алкогольная фаза и к ней прибавляется $^1/_2$ объема лигроина, 20 см³ дестиллированной воды и снова экстрагируется 30 минут. Экстракция проводится таким же образом третий раз, однако не менее 1 часа, после чего все алкогольно-водные фракции соединяются, разводятся трехкратным объемом воды и экстрагируются $^1/_2$ объемом эфира в течение 3 часов на шюттельмашине. Эфирный раствор содержит прегнандиол и гормон фолликулин; раствор промывается один раз водою, просушивается безводным $CaCl_2$ и эфир отгоняется в вакууме. В остатке — красно-коричневое масло, выход—22 г.

II Фаза. 20 г полученного красно-коричневого масла растворяется в 240 см³ этилового алкоголя, прибавляется 160 см³ дестиллированной воды и осаждается 200 см³. бензола. Экстракция в делительной воронке в течение 30 минут. Отделив алкогольную фазу, повторяют снова экстракцию дважды с 200 см³ бензола (без прибавления воды) по 30 минут. Бензольные фракции, окрашенные в коричневый цвет, содержат прегнандиол и фолликулин.

После отгона бензола в вакууме остаток в виде коричнево-желтого масла (выход — 6 г) принимается в ацетон, откуда после сгущения ацетона в вакууме выходят тяжелые кристаллы прегнандиола. Выход до 4,0 г. После перекристаллизации из ацетона продукт дает т. пл. при 234°.

Примечание 1. Если кристаллизация прегнандиола не наступает или дает малые выходы, тогда следует подвергнуть масло дальнейшей очистке: 1,14 г масла растворяются в 110 см³ этанола, содержащего третьей частью своего объема 2-норм. водн. раств. HCl, и кипятится на водяной бане с обратным холодильником 3 часа. Горячая смесь разводится 500 см³ воды, к ней приливается $^1/_2$ объема эфира и экстрагируется дважды по 15 минут (эфир принимает после первой экстракции желтую окраску, после второй—бледножелтоватую). Соединенные эфирные растворы отделяются и про-

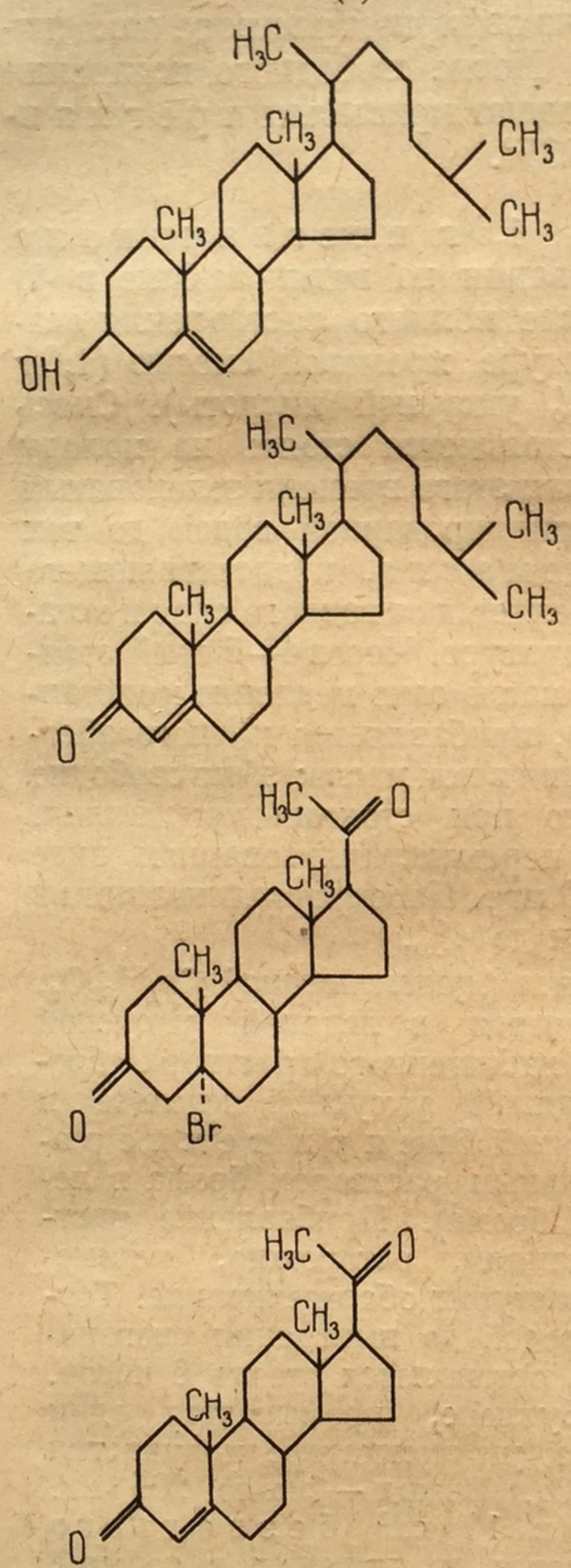
мываются водным насыщенным раствором соды Na_2CO_3 до тех пор, пока новые порции соды не перестанут окрашиваться. Эфирный раствор отделяется и дважды экстрагируется в течение 12 часов подряд на шюттель-машине $^1/_2$ объемом 1-нормального водного раствора NaOH. Воднощелочной раствор содержит фолликулин, в нерастворимом в щелочах эфирном растворе находится прегнандиол. После свободного испарения эфира (вентилятор) выпадают кристаллы прегнандиола, т. пл. 234—235°.

II. Выделение прегнандиона. 1,0 г прегнандиола растворяется при слабом подогревании на водяной бане в 40 см³ 90% уксусной кислоты и после полного растворения осаждается при комнатной температуре хромовой смесью (1,0 г CrO_3, растворенный в 40 см³ 90% уксусной кислоты). Смесь после хорошего размешивания оставляется стоять на холоду (около—10°) 12 часов. По прошествии этого времени зеленоватый раствор разводится холодной дестиллированной водой до тех пор, пока не выпадет осадок в виде масла, представляющего собой прегнандион. Масло отделяется от водного слоя и оставляется стоять при комнатной температуре. Через 4—5 дней стояния при частом трении палочкой масло само медленно кристаллизуется. Если этого не наступило, прибавляется немного абсолютного эфира до полного растворения в нем масла; эфир свободно испаряют, тогда выходят медленно при стоянии кристаллич. иглы прегнандиона, в не перекристаллизованном виде т. пл. 120—121°, выход—около 400 мгр. Перекристаллизация из 60° алкоголя дает потерю вещества до 4%.

III. Выделение Δ^4 — прегнен-диона (лутеостерона) $C_{21}H_{30}O_2$. 500,0 мг прегнандиона растворяется в ледяной уксусной кислоте, прибавляется 3 капли насыщенного раствора бромисто-водородной кислоты в ледяной уксусной кислоте и смесь осаждается осторожно на водяной бане при температуре не выше 20° 4-нормальным раствором брома в ледяной уксусной кислоте (1,05 Mol брома). Прибавление раствора брома производится по каплям, осторожно, перемешивая смесь до тех пор, пока не наступит обесцвечивание. Тогда раствор осаждается холодной водой до выпадения снегоподобного объемистого осадка. Смесь оставляется стоять 6 часов. Осадок отфильтровывается на Бухнере, промывается один раз водой и после просушки в вакуум эксикаторе получается дибромид дикетона $C_{21}H_{30}O_2$. Выход — около 205 мг. Сухой дибромид суспендируется в 10 см³ безводного абсолютного пиридина и нагревается до кипения в течение 12 часов беспрерывно. Раствор принимает вначале бурую окраску, затем светлеет до светло-желтой. После закипания горячий раствор снимается с огня, осаждается 10 см³ дестиллированной воды, к

нему прибавляется до нейтральной реакции (конго) 5-нормальный раствор серной кислоты, после чего продукт принимается в абсолютный эфир. Эфир промывается водой один раз, отфильтровывается, прибавляется щепотка угля, доводится один раз до кипения, освобождается от угля фильтрованием. Эфирный фильтрат, почти бесцветный, помещается в широкой кристаллизационной чашке, где эфир удаляется свободным испарением при комнатной температуре. В остатке — пронизанная кристаллами смолоподобная стекловидная масса. Растворением в эфире и повторным удалением эфира удается выделить игольчатые кристаллы без перекристаллизации, дающие т. пл. 118°. После однократной перекристаллизации из 70° алкоголя получаются бесцветные иглы с т. пл. 121—122°, соответствующие стерону — дикетону $C_{21}H_{32}O_2$. Выход составляет около 32,5 мг.

Принципиальная схема синтеза (3)



Синтез из холестерина по Тавастшерна

Принцип синтеза основан на том, что путем окисления холестерина получается соответствующий ему кетон — холестенон, в кольчатом скелете которого как кето-группа, так и двойная связь находятся в том же положении, что и в гормоне беременности — дикетоне $C_{21}H_{30}O_2$. Путем бромирования защищается двойная связь, осторожное окисление с помощью перманганата калия отщепляет боковую цепь и позволяет ввести вместо нее кето-группу. В результате получается бромид дикетона $C_{21}H_{30}O_2$, разложение которого приводит к стерону.

Синтез проводится по этапам следующим образом:

I. Выделение холестенона. 200 г холестерина помещаются в тугоплавкую реторту и нагреваются на масляной бане (осторожно — вспышка масла) до расплавления. Тогда прибавляется порциями (по 10 г) 40 г измельченного не в очень тонкий порошок CuO, температура доводится до 280—310°. Наступает бурная реакция с выделением водорода и воды. Когда реакция заканчивается (около 40—60 минут), горячая масса выливается в круглодонную колбу так, чтобы она размазалась тонким слоем по стенкам. После полного охлаждения масса экстрагируется на шюттель-машине с небольшими порциями абсолютного метанола до тех пор, пока смола черного цвета вполне не растворится. Экстракция требует около 2 дней. Соединенные фракции метанола имеют желтый цвет, прибавляется щепотка угля, раствор один раз встряхивается, отфильтровывается и едва желтоватый фильтрат сгущается в вакууме. При длительном стоянии выпадают кристаллы холестенона. Продукт, перекристаллизованный из уксусно-этилового эфира, дает т. пл. 81—82°. Выход — 70 г продукта в виде игольчатых образований. Установка аппаратурная для получения холестенона показана на рис. 85.

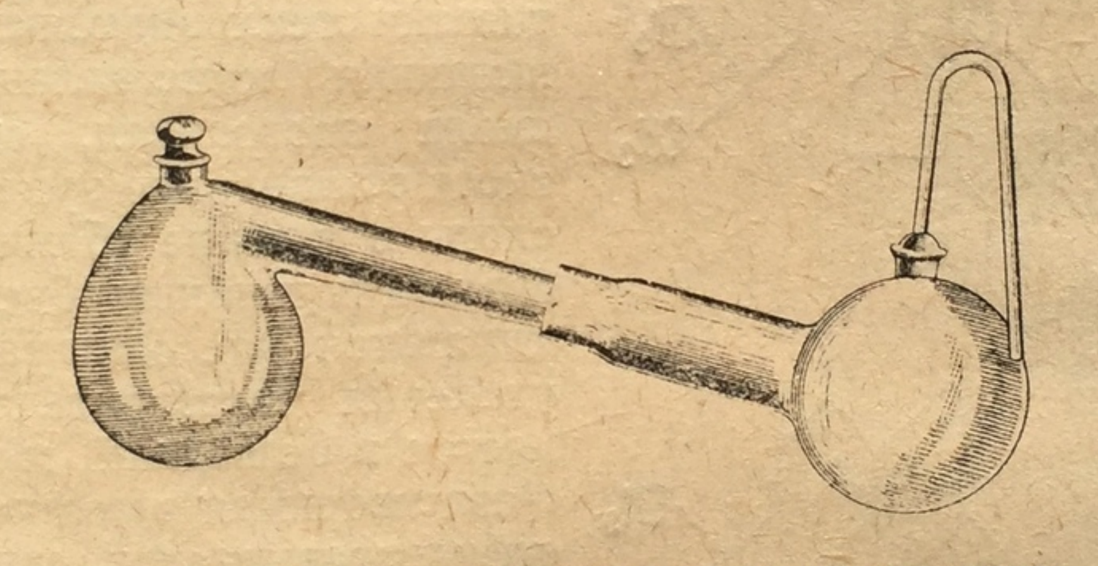
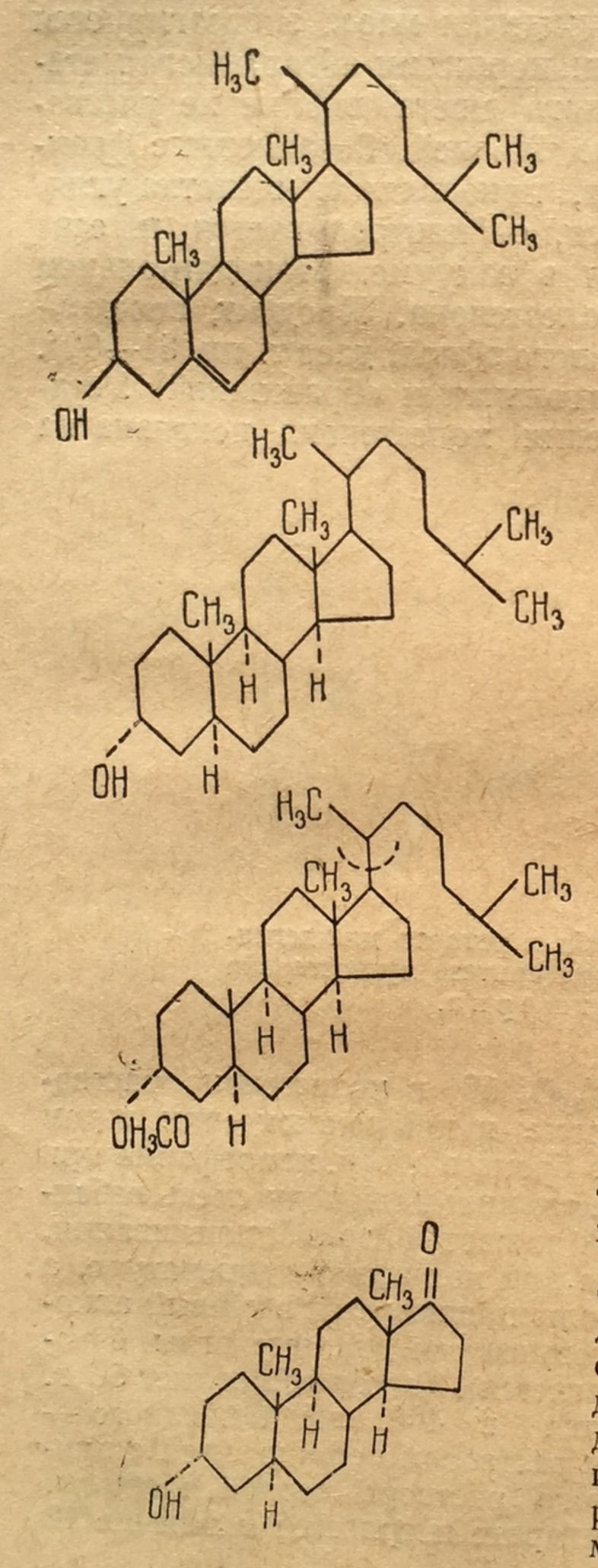


Рис. 85. Фарфоровые колба и реторта для дегидрирования холестерина при синтезе лутеостерона по Таваштшерна.

II. Выделение дикетона $C_{21}H_{30}O_2$ 50 г холестенона растворяются в абсолютном хлороформе и при охлаждении льдом осторожно прибавляется раствор брома в абсол. хлороформе при постоянном помешивании. После стояния на холоду смесь взбалтывается один раз с сернистой кислотой до обесцвечивания, хлороформ отгоняется в вакууме при комнатной температуре, а остаток в виде светложелтой смолы принимается в теплый алкоголь, из которого выкристаллизовываются длинные иглы бромида, с т. пл. 147—148° (разлагается). Выход составляет 56 г.

10,0 г продукта растворяется в 400 см³ безводного — бензола и осаждаются 5% водным раствором перманганата с прибавлением 100 см³ 20% водного раствора серной кислоты. Смесь помещается в шюттель-аппарате и трясется в течение 12

часов. Образовавшийся коричневый осадок осторожно растворяется прибавлением по каплям сернистой кислоты, после чего смесь отстаивается в делительной воронке. Водный слой экстрагируется дважды по 250 см. эфира по 15 минут. Бензольная и эфирная фракции соединяются, прибавляются цинковая пыль и ледяная уксусная кислота; смесь на кипящей бане подвергается вакуумной дестилляции и продолжается до тех пор, пока не перестанет больше выделяться отгон. К остатку прибавляется вода и он нагревается на кипящей водяной бане в течение 1 часа. По окончании редукции смесь экстрагируется эфиром, пока новые порции эфира не перестанут более окрашиваться в желтоватый цвет. Эфирный слой отделяется, промывается дважды 2-нормальным раствором едкого натра, затем дважды водой, отфильтровывается и эфир отгоняется в вакууме. В остатке — слегка желтоватая стекловидная смола, пронизанная кристаллами. Если смола прозрачная, она кипятится с ангидридом уксусной кислоты в течение 15 минут, разбавляется двойным объемом воды, кипятится еще один раз и после удаления растворителя принимается в безводный метанол. Нерастворимая в метаноле часть отфильтровывается, едва желтоватый фильтрат содержит дикетон $C_{21}H_{30}O_2$; при сгущении в вакууме медленно выходят кристаллические призмы т. пл. 117—118°. После перекристаллизации из метанола т. пл. достигает 121—123°. Кристаллизация длится несколько дней. Ускорение кристаллизации достигается прививкой кристаллов дикетона $C_{21}H_{30}O_2$. Выход кристаллического гормона от 10,0 до 20,0 мг. Аналогично, повидимому, можно вести синтез, исходя из ацетата аллохолестерина, применяя окисление помощью CrO_3 на холоду.



3. Синтез мужского полового гормона — андростерона

Принцип синтеза основан на том, что структурной формуле мужского полового гормона соответствует по своему кольчатому скелету насыщенный дериват холестерина «ε» — дигидро-холестерин (epi-холестанол). При восстановлении холестерина никкелем образуется epi-холестанол, а наряду с ним ряд стереоизомеров, δ-холестанол и β-холестанол. Ацетилированием возможно защитить кольца скелета этих веществ при окислении их хромовой кислотой. В результате осторожного окисления CrO_3 получаются ацетаты оксикетонов, у которых кольчатый скелет остается нетронутым, боковая цепь полностью удалена, а на месте ее образуется кетогруппа. Так получается синтетическим путем насыщенный оксикетон — андростерон, соответствующий мужскому половому гормону — тестикулостерону. Этот синтез впервые был осуществлен Ружикой и его школой и является одним из самых простых синтезов стеронов (см. формулу на стр. 198).

Ход синтеза протекает по этапам следующим образом:

I. Выделение дигидрохолестерина (epi-изомера). В тугоплавкую колбу Кьельдаля, в дно которой впаяна газоотводная трубка, помещается 600 г сухого холестерина, прибавляют приготовленного Ni-катализатора изготовленного по Виндаусу (600 г. х. ч. азотнокислого никкеля растворяются в ступке в 120 гр. глюкозы, содержащей 1% HCl и смесь переводится в студень медленным распылением в горячей кварцевой чашке). Из колбы выкачивается воздух (масляный насос), колба нагревается на масляной бане до 200° и когда эта температура достигнута, пропускается ток чистого водорода в течение 12 часов, причем к концу 12-го часа температура доводится до 260°. По охлаждении буровато-зеленой смеси в колбу приливается 1 л абсолютного. эфира и проводится трижды с теми же количествами свежего эфира экстракция на шюттель-аппарате по 6 часов. После соединения эфирных фракций эфир отгоняется в вакууме, остаток кристаллизуется из низко-кипящего петролейного эфира. Выход — 316,68 г сырого продукта, смеси β,-δ,-ε-холестанолей в виде кристаллов.

200 грамм этого продукта растворяются при нагревании в 8 л этилового алкоголя (95°). Раствор разделяется на 10 порций (для экономии дигитонина) и в каждой порции поочередно производится осаждение дигитонином из расчета на каждые 20 г исходного продукта 40 г дигитонина в 2 л этилового абсолютного алкоголя.

Примечание. После каждого осаждения из осадка β-холестанол-дигитонида, диготинин регенерируется экстракцией ксилолом и снова идет в работу. Потери после каждой регенерации до 5% дигитонина.

После осаждения дигитонином смесь должна стоять при комнатной температуре 12 часов. В осадке — β-холестанол-дигитонид, который отфильтровывается через двойной фильтр и идет для регенерации дигитонина. Фильтрат содержит σ-и ε-холестанол. Повторное осаждение не должно давать осадка при стоянии в течение 24 часов. Соединенные алкогольные фильтраты сгущаются до $^1/_4$ объема в вакууме, после чего разводятся тройным объемом воды и экстрагируются $^1/_2$ объемом абсолютного эфира дважды по 3 часа. Соединенные эфирные фракции промываются один раз $^1/_2$ объемом дестиллированной воды, отфильтровываются и эфир отгоняется в вакууме. В остатке — желтоватое масло, которое принимается в метанол. При стоянии выходят кристаллы, которые подвергаются фракционированной перекристаллизации из метанола; трудно растворимый ε-холестанол выходит первым в виде тяжелых игл с т. пл. 180—183°; выход — около 20 г.

II. Выделение ацетата дигидрохолестерина. 20 г ε-холестанола растворяется в 200 см³ безводного бензола и к раствору прибавляется 135 см³ ангидрида уксусной кислоты. Смесь кипятится с обратным холодильником 8 часов, после чего в вакууме отгоняется нацело растворитель. В остатке — буроватая масса, которая легко выкристаллизовывается из метанола. Выход — 22 г ацетата с т. пл. 96°.

III. Выделение гормона — тестикулостерона (3.-эпи-окси-этиоаллохоланон). Ацетат растворяется при нагреваниии до 94—96° в ледяной уксусной кислоте и при постоянном помешивании осаждается в течение 5 часов прибавлением по каплям хромового ангидрида, растворенного в ледяной уксусной кислоте. После окончания осаждения смесь нагревается на водяной бане до 90° в течение 4 часов, после чего оставляется стоять при комнатной температуре. Избыток хрома разлагается прибавлением 3—4 см³ метанола и растворитель отгоняется в вакууме. Остаток разводится тройным объемом воды и экстрагируется эфиром дважды по 6 часов (шюттель-машина). Соединенные эфирные растворы промываются водой, экстрагируются тем же объемом 3-нормального водного раствора NaOH трижды по 3 часа. После каждой такой экстракции выделяется в виде тонкой взвеси между слоем водной щелочи и эфира трудно растворимый осадок натриевой соли ацетата оксикетона тестикулостерона. Водный слой отделяется вместе с осадком из делительной воронки и количественно собирается путем центрифугирования раствора (3000 оборотов — 30 минут). Выход нейтрального вещества составляет около 6,0 г буроватой смолистой массы приятного ароматического запаха. Смолистая масса подвергается перегонке с водяным паром до тех пор, пока остаток не перестанет иметь указанный выше запах. Остаток растворяется затем в 95° этиловом алкоголе и оставляется стоять в вакуумэксикаторе при 0° в течение 24 часов. Выходят кристаллы не превращенного ацетата дигидрохолесте-

рина (около 3,1 г). Оставшееся масло осаждается насыщенным алкогольным раствором ацетата семикарбазида и нагревается на 70° водяной бане в течение $^1/_2$ часа. После этого раствор оставляется на холоду(—4°) до тех пор, пока не выделится кристаллический осадок семикарбазона ацетата оксикетона $C_{19}H_{30}O_2$.

Выходит 4,3 г желтоватых кристаллов семикарбазона с т. пл. 256°. Перекристаллизация из этанола (один раз) дает потерю до 2%, кристаллы, однако, почти бесцветные с т. пл. 270—272°. 2,0 г семикарбазона ацетата андростерона с т. пл. 270—272° нагреваются на водяной бане с 20 см³ смеси равных объемных частей концентрированной HCl и ледяной уксусной кислоты до тех пор, пока не наступит полное растворение, тогда горячий раствор разводится дестиллированной водой и экстрагируется эфиром трижды по 1 часу. Соединенные эфирные фракции дважды промываются насыщенным водным раствором соды, затем дважды водой, после чего эфир отгоняется в вакууме.

Остаток—светложелтая смолистая масса—кипятится на водяной бане с 0,5-нормальным алкогольным раствором KOH и еще теплым нейтрализуется (на лакмус) ледяной уксусной кислотой. В вакууме растворитель отгоняется. Остаток осаждается водой, прибавляется 100 см³ эфира и дважды экстрагируется по 4 часа. Эфирные растворы соединяются, промываются дважды $^1/_2$ объемом насыщенного раствора соды, потом водой и после отфильтровывания эфир отгоняется в вакууме. Получается желтоватое масло, которое принимается в 75° этиловый алкоголь и оставляется при температуре —12° стоять до тех пор, пока не выпадет хлопьевидный осадок коллоидального типа. Хлопья отделяются от маточного раствора, последний помещается в вакуум-эксикатор до тех пор, пока не появятся кристаллы. Выделившиеся кристаллы смываются один раз холодным эфиром от остатков масла, после чего продукт высушивается. Сухой не перекристаллизованный продукт желтоватого цвета показывает т. пл. 170°, после перекристаллизации из смеси уксусно-этилового эфира с бензином т. пл. 178°. Выход — 160 мг кристаллического синтетического мужского полового гормона в виде беловатых листков.

Резюмировать изложенные пути синтеза стеринов можно общей сводной таблицей которая заключает сопоставление выходов, получаемых при осуществлении этих синтезов в лабораторном масштабе. Не подлежит сомнению, что синтетические способы во много раз рентабельнее способов выделения естественных гормонов, не говоря уже о значительно большей доступности исходных материалов.

СВОДКА ЛАБОРАТОРНЫХ ВЫХОДОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ СТЕРОНОВ

Синтез лутеостерона

А. ИЗ СТИГМАСТЕРИНА

1. Какао масло—исходн. кол.—4 кг

2. Сырой фитостерин выход—105 г

Отход: Ситостерин

3. Стигмастерин-ацетат, крист. выход.—13,6 г т. пл. 141°

4. Ацет-окси-бис-нор-холеновая к-та, крист. выход — 1,8 г т. пл. 234°

5. Окси-бис-нор-холеновая к-та, крист. выход—1,0 г т. пл. 293—294°

6. Метиловый эстер кислоты крист. выход—1 008 мг т. пл. 140°

7. Оксикетон сырой продукт=506 мг ($C_{21}H_{32}O_2$), крист. продукт—302 мг т. пл. 188—190°

8. Кристаллич. гормон — дикетон $C_{21}H_{30}O_2$—сырой продукт, выход—130 мг (Δ^4-прегнен-ди-он) кристалл. продукт 25—30 мг т. пл. 128—129°

В. ИЗ ПРЕГНАН-ДИОЛА

1. «Сырое масло» з-д «Фармакон», исходное кол.—100 г (из мочи беременных)

2. I активная фракция масла, выход—22 г

3. II активная фракция масла, выход—16,0 г

Отход: Фолликулин

4. Прегнан-диол — кристалл. выход=5.0—4.0 гр т. пл. 234°

5. Прегнан-ди-он кристалл. выход—1.6—2.0 мг т. пл. 120—121°

6. Дибром дикетона (гормона), кристал. выход—800 мг т. пл. 184—185°

7. Кристаллич. гормон

Дикетон $C_{21}H_{30}O_2$ (Δ^4 прегнен-ди-он) т. пл. 121—122 крист. продукт, выход—100—150 мг

С. ИЗ ХОЛЕСТЕРИНА

1. Холестерин, кристалл. исходн. кол.—200,0, т. пл. 148°
↓
2. Холестенон, кристалл. выход—70,0, т. пл. 81—82°
↓
3. Бромид дикетона (гормона) кристалл. выход 800—600 мг т. пл. 185°
↓
4. Кристаллич. гормон, сырой продукт выход—200—250 мг
Дикетон $C_{21}H_{30}O_2$, кристал. продукт, выход—140—80 мг
(Δ^4 прегнен-ди-он)
т. пл. 121—122°

СИНТЕЗ ТЕСТИКУЛОСТЕРОНА

1. Холестерин, исходн. кол.—600,0 г, т. пл. 148°
↓
2. Сырой продукт дигидро-холестанолей (β, σ, ε-изомеры) — выход—316,5 г

Отход:
1. β-холестанол ←
2. δ-холестанол

↓
3. ε-холестанол, кристалл. вых.—30,0—33,0 г т. пл. 180—183°
↓
4. Ацетат ε-холестанола кристалл. выход—32—36 г т. пл. 96°
↓
5. Na—соль ацетата, кристалл. выход—8,5—9,0 гр андростерона

Отход:
1. ε-холестанол ←

↓
6. Семикарбазон ацетата андростерона, сыр. крист. выход—6,4—7,2 г, т. пл. 270—272°
↓
7. Сырой продукт — андростерон, полукристал. выход—2,5 г т. пл, 170°
↓
8. Кристаллич. гормон андростерон, кристалл. выход—1000 до 1660 мг т. пл. 178°

4. Вопросы синтеза фолликулостерона

Главным затруднением синтеза фолликулостерона является отсутствие у C_{10} метиленовой группы.

Если синтез тестикулостерона, как мы видели, в основных чертах базировался на гидрировании холестерина, эпимеризации

гидроксильной группы и отрыве длинной боковой цепочки, то образование фолликулостерона, основанное на аналогичном ходе синтеза, требует, однако, еще дальнейшего шага вперед, а именно дегидрирования кольца А с отщеплением из него метана у C_{10} т. е. в месте соединения колец А и В. Эта реакция еще мало изучена в химии стеринов, она требует поэтому своего воспроизведения вообще, после чего лишь может стать актуально вопрос о синтезе этим путем фолликулостерона.

Мной был, однако, разработан совместно с Н. И. Таваст-шерна иной путь синтеза фолликулостерона, который был испробован экспериментально и дал в биологической пробе положительный результат. К сожалению, по непредвиденным обстоятельствам все продукты этого синтеза погибли (март 1935г.) и он не смог быть до сих пор снова воспроизведен. Также не были еще выделены кристаллические конечные продукты синтеза, индентифицирование которых осталось открытым. Тем не менее, как сказано, смолы, полученные в результате синтеза, дали положительный эфект в пробе Аллена. Эти данные ориентировочны вследствие того, что работа по существу не закончена. Смолы были проверены по ходу работы всего на двух животных, а так как они химически не смогли быть ближе охарактеризованы, то остается нерешенным вопрос, был ли получен препарат, идентичный фолликулостерону, или речь идет о каком либо деривате стеринов, который, как и многие из них, дает эффект течки.

Несмотря на все указанные моменты, я все же изложу здесь те принципиальные предпосылки, из которых Тавастшерна ия исходили при этой попытке синтеза фолликулостерона, причем дальнейшую разработку этого вопроса мы оставляем за собой.

Одним из нас (Ремезов) было установлено в продолжение исследований Виндауса и Чеше по так называемому «изохолестерину», что находящийся в количестве 8% в последнем — агностерин — является чрезвычайно подходящим исходным материалом для синтеза фолликулостерона. Это следует из ближайшего рассмотрения этого соединения.

Агностерин - имеет брутто-формулу $C_{30}H_{48}O$ (фолликулостерон — $C_{18}H_{22}O_2$) при наличии кольчатого скелета, общего для стеринов; замечательно то, что он имеет три двойных связи, расположенных, повидимому, аналогично как и в скелете фолликулостерона, т. е. кольцо А ароматизовано. Последнее следует при детальном рассмотрении оптических свойств молекулы чистого агностерина; максимум селективной абсорпции ультрафиолета соответствует величинам, найденным для фолликулостерона. На рис. 86 приведена для сравнения кривая абсорпции в ультрафиолете, полученная для агностерина.

На этом основании и была предпринята попытка путем защиты кольцевой системы агностерина оторвать окислением длинную боковую цепочку и ввести на ее место карбонильную группу

Подробное изложение хода синтеза будет опубликовано по окончании указанной работы, поэтому я ограничусь лишь изложенным.

В заключение, несколько замечаний по поводу первого из указанных выше возможных путей синтеза фолликулостерона. Есть все основания предполагать заранее, что осуществление требуе-

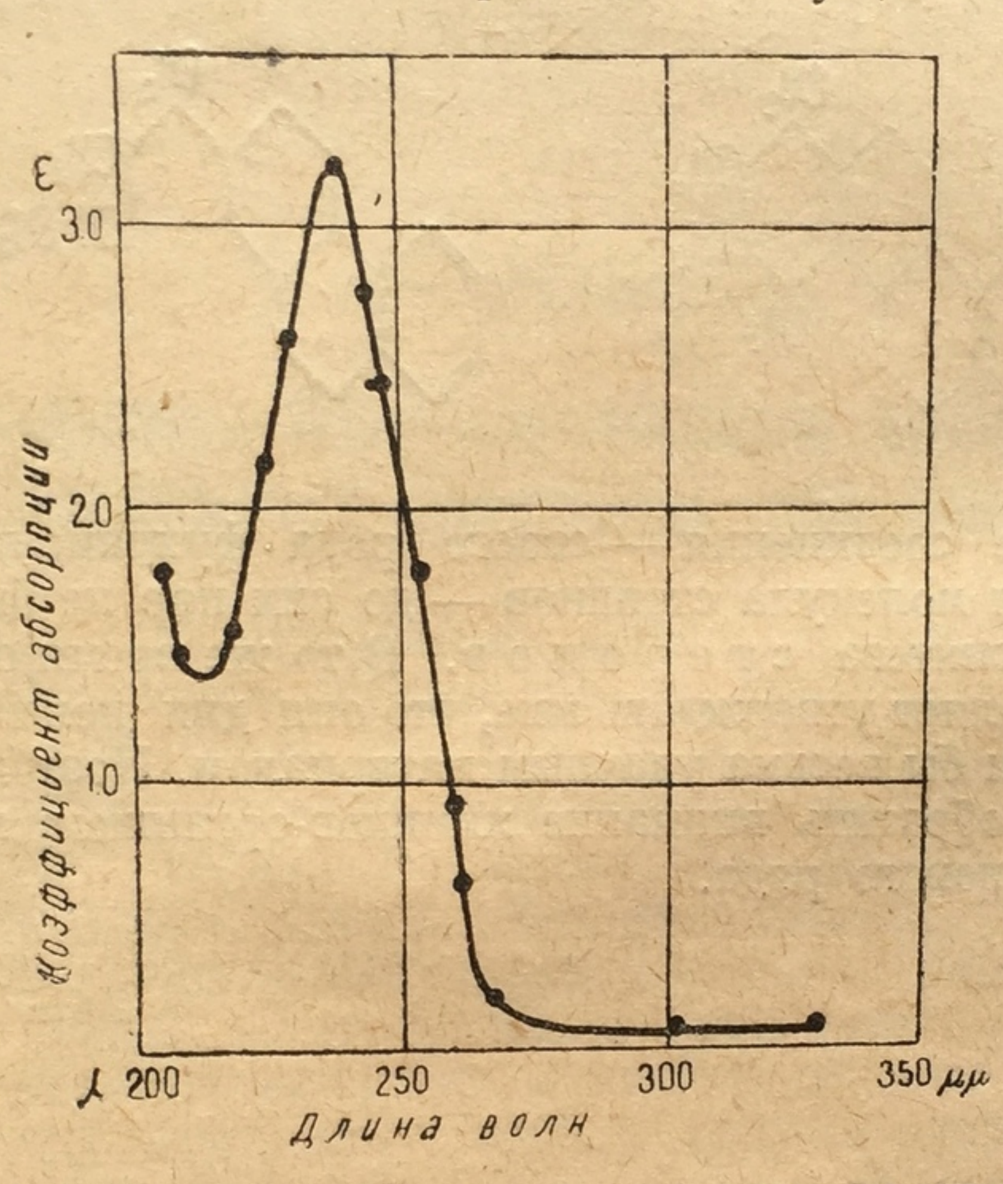
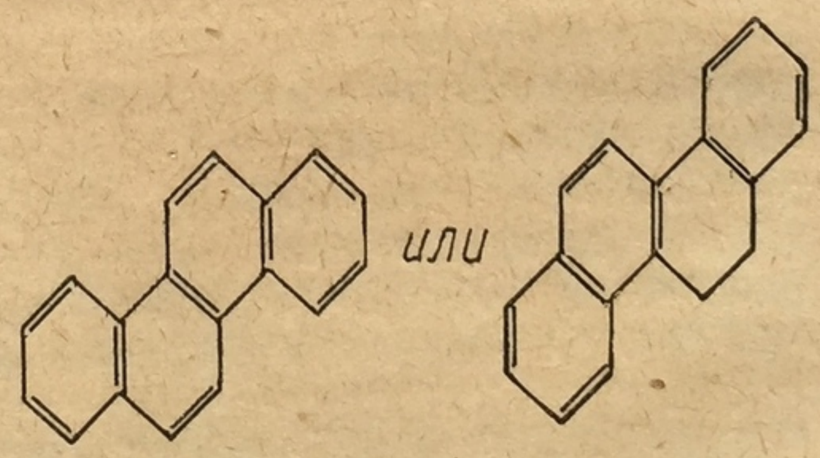
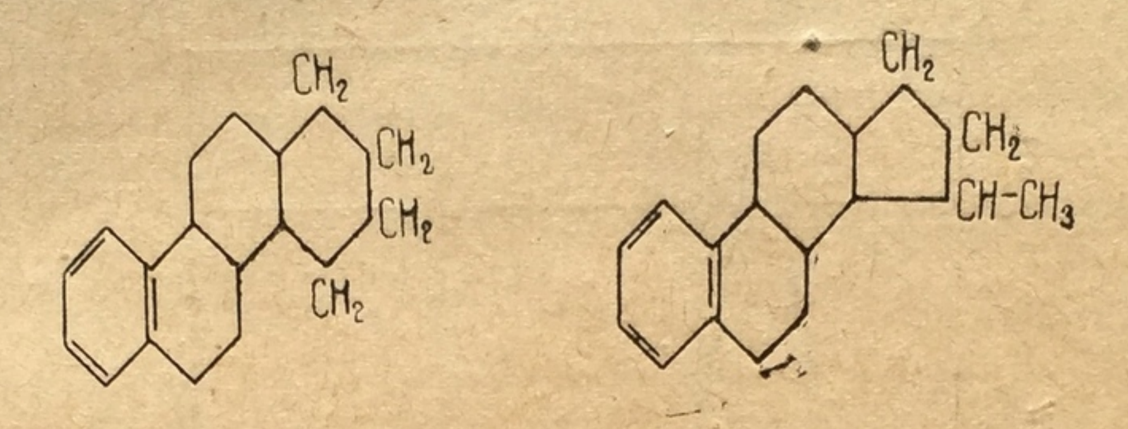


Рис. 86. Кривая абсорпции агностерина в ультрафиолете.

мых перегруппировок на стыке колец А и В в скелете холестерина не имеет шансов на успех, если исходить из холестерина или его производных. Подобная задача едва ли разрешима сейчас, потому что неминуемо приведет к разрыву кольцевой системы, а воссоздать ее снова было бы равносильно решению проблемы синтеза самого холестерина, что на современном этапе знания химии этого соединения чрезвычайно трудно и сомнительно. Мне кажется поэтому, что больше шансов на успех имеет иной подход к этому, а именно следует, может быть, исходить не из уже сформированных стеринов, а из предварительных ступеней, — из продуктов, которые приводят к холестерину и его дериватам. В первую очередь я здесь упомяну хризен $C_{18}H_{12}$, имеющий показанную выше кольчатую систему.



Кроме хризена, многообещающими исходными продуктами, мне кажется, могут быть производные его (тетрагидро-хризен), а также продукты дегидрирования стеринов — углеводороды $C_{18}H_{16}$ (циклопентено-фенантрены) и $C_{25}H_{27}$, формулы строения которых я привожу ниже:



Указанные соединения — своего рода фундамент, на котором строится молекула стеринов — до сих пор не были использованы для синтеза стеронов. В то же время опыт работы с ними позволяет утверждать мне, что они для целей подобного синтеза были бы весьма удачным материалом. Поэтому я считал возможным обратить внимание химиков-органиков на эти продукты стеринового ряда.

ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ (СТЕРОНОВ)

Весь изложенный материал по химии стеронов с убедительностью показал, какие большие успехи были здесь достигнуты химиками и биохимиками. Основным условием этих успехов была совместная работа химиков с физиологами, которым принадлежит бесспорная заслуга выработки надежных биологических проб на выделенные стероны. Без этой предпосылки вряд ли химия стеронов смогла бы шагнуть так далеко вперед. Физиологическая оценка действия сексуальных гормонов возможна только на животном материале, и поэтому описание надежных, принятых в настоящее время проб на стероны является естественным дополнением к химии этих соединений. Перед тем как перейти к изложению материала, я хочу вкратце указать на те общие требования, которые должны предъявляться к биологическим пробам (тестам) на стероны:

1) физиологическая реакция животного в пробе должна быть специфической, т. е. она должна быть характерной только для данного стерона;

2) проба должна быть достаточно чувствительна, давая ясный эффект от минимальных доз стерона. Это требование важно с чисто практической стороны, так как мы видели, насколько дорог и незначителен по выходам испытуемый материал;

3) время, в течение которого получается «положительный» или «отрицательный» ответ пробы, должно быть максимально коротким, во всяком случае не более недели. Пробы, может быть с физиологической точки зрения идеальные, но дающие ответ через несколько месяцев, совершенно непригодны для химика;

4) наконец проба должна быть рассчитана на массовое серийное осуществление, а потому она должна пользоваться минимальным количеством животных, которые должны быть крупными; она должна быть достаточно простой, не требуя специальных лабораторий и сложного оборудования.

Из изложенного вытекает, следовательно, тот характер, который должна носить биологическая проба на животных, с одной стороны, а с другой — тот критерий, который служит химику для убедительности и достоверности биологического ответа на испытуемый препарат. Совершенно очевидно поэтому, что какая угодно проба, как бы она сама по себе ни была удовлетворительна, только тогда убедительна, если она проведена не на одном животном, а на их серии, на достаточном количественном материале, при постоянном наличии контрольных животных. Все эти предпосылки должны быть исходными в работе по химии и биохимии стеронов.

1. Физиологическая проверка действия препаратов женских сексуальных гормонов

Методы биологической стандартизации препаратов фолликулостерона и лутеостерона я подвергну ради удобства одновременному разбору.

Прежде всего о фолликулостероне. Самой надежной пробой является проба Аллена и Дуази, все модификации ее имеют второстепенное значение. Все пробы по существу берут в качестве принципа какой-либо из характеристических признаков проявления физиологического действия гормона. Проба Аллена—Дуази покоится на наиболее характерном специфическом проявлении действия фолликулостерона- она быстра и проста и ей поэтому можно отдать предпочтение перед остальными. Тем не менее, я вкратце резюмирую и остальные пробы, которые в крайнем случае могут быть также применены для проверки препаратов фолликулостерона.

1. Пробы на Mamma-аппарат (Лакер, Дорн, Белленби, Паркес, Бенкан и др.) основаны на том, что при даче фолликулостерона наступает усиленное снабжение кровью сосков, их гиперемия и набухание молочных желез вплоть до лактации. Стандартизация гормона возможна на том основании, что у нормальных девственных самок кроликов или крыс молочный аппарат развивается к 17-й неделе. Аналогичное развитие достигается у инфантильных или кастрированных самок в течение трех недель при даче кристаллического фолликулостерона. На 4-й неделе уже можно установить в железах появление молока, а лактацию на 7—8-й неделе. Удобной пробой служит гиперемия сосков, наступающая у подобных животных уже на 4-й день после дачи стерона.

2. Пробы на размеры гениталий были предложены Моррелем на кастрированных обезьянах, у которых возможно при даче фолликулостерона обнаружить огромное набухание половых частей и увеличение их размеров. Этот способ разрабатывается на обезьянах с более простой методикой Н. И. Тавастшерна в Субтропическом филиале

ВИЭМ. Есть все основания ожидать, что этот способ будет удачным как быстрая проба на фолликулостерон. Следует упомянуть также разработанную на обезьянах пробу Бочкарева (лаважи и исследование секрета).

Пробы на способность к копуляции (Геммингсен) на периодичность течки у животных (Кеннеди, Доддс), и т. д. не вносят ничего нового.

Лучшей, таким образом, остается проба Аллена—Дуази на кастрированных мышах, которая и будет ниже описана. Она берет в качестве критерия специфические морфологические изменения секрета при течке.

В отношении лутеостерона биологические пробы основаны также на его физиологическом эффекте. Большинство проб поэтому относится к рассмотрению изменений слизистой матки в «секреторную» фазу. Здесь я не буду останавливаться на деталях, ибо все изменения были весьма подробно изложены и иллюстрированы в главе первой, посвященной разбору эндокринной деятельности половых желез. Укажу только на принципы ряда предложенных проб для стандартизации лутеостерона.

1. Проба на изменения слизистой матки (Корнер и Аллен, Клауберг,) основана на следующем: половозрелые самки кроликов, в яичниках которых имеются уже зрелые фолликулы (см. главу первую), подпускают к себе самцов. Проба проводится таким образом, что самки тотчас же после их копуляции кастрируются, кусочек рога матки исследуется гистологически (контроль). Этим животным, у которых матка находилась в пролиферированном состоянии, вводится 5 дней подряд однократно под кожу масляный раствор лутеостерона. На 6-й день животные убиваются и матка исследуется на наличие специфических изменений слизистой, обусловленных действием лутеостерона. Клауберг изменил эту пробу в том отношении, что он ее проводит на инфантильных кроликах, которые предварительно обрабатываются фолликулостероном, чтобы искусственно вызвать пролиферативную фазу слизистой матки, после чего вводится лутеостерон таким же, как было описано, образом. I КЕ—одна кроличья единица — есть наименьшее количество стерона, которое способно вызвать превращение пролиферированной слизистой в секреторную фазу.

На другом принципе основана проба Кнауса.

2. Проба с проланом Кнауса исходит из наблюдения, что матка беременных самок не отвечает на воздействие проланов. Он предложил I КЕ—единицу на кролике — как то наименьшее количество лутеостерона, которое способно сделать нечувствительной к действию пролана через 48 часов после его дачи, матку самки кролика весом в 2 кг. Однако эту пробу многие авторы подвергают сомнениям (Клауберг, Шульце, Гартманн—Штерринг и др.).

Остальные пробы, основанные на набухании, типичном для беременности, половой щели у молодых не беременных мышей (Гаррис и Ньюмэн), на образование «децидуом» и т. д. не могут идти в сравнение с пробами Клауберга, Корнера и Аллена и изложение их не имеет большого смысла.

Для надежной стандартизации лутеостерона следует применять, таким образом, пробу Корнера—Аллена—Клауберга в модификации Гольвега, о чем и будет сказано дальше.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФОЛЛИКУЛОСТЕРОНА И ЛУТЕОСТЕРОНА

Рекомендуемыми и надежными способами стандартизации женских стеронов следует считать на основании всего изложенного нижеследующие:

Проба Аллена—Дуази на фолликулостерон. Принцип ее основан на том, что при нормальной течке у самок мышей, крыс на высоте этого процесса вагинальный секрет характеризуется исчезновением из него полиморфноядерных лейкоцитов, а также имевшихся в секрете ядерных эпителиальных клеток. Взамен этих последних появляются исключительно безъядерные плоские эпителиальные клетки, что и представляет характерный специфический признак. После кастрации животных (мышей) эти периодические морфологические изменения в клетках секрета половой щели прекращаются. Дача фолликулостерона их снова восстанавливает.

I МЕ — одна мышиная единица — есть то наименьшее количество кристаллического фолликулостерона, которое при инъекции в растворе масла (сезамовое масло) подкожно 15—20 кастрированным мышам, находившимся в «стадии покоя» (отсутствие течки), вызывает по меньшей мере у 75% «полную течку», критерием которой служит описанная морфологическая картина влагалищного секрета. На подробностях методики этой пробы едва ли здесь следует останавливаться, она настолько общепринята и распространена, что описывается достаточно подробно как в монографиях, так и в учебниках по внутренней секреции.

Я остановлюсь только на удобном ее видоизменении в связи с пробой на лутеостерон. Вместо мышей возможно получить не менее характерную морфологическую и еще более специфическую для физиологического действия фолликулостерона картину на матке инфантильных кроликов (весом до 800 г).

I КЕ — одна кроличья единица — есть то минимальное количество фолликулостерона, которое при даче его

ежедневно подкожно инфантильным самкам кроликов в течение 6 дней вызывает «пролиферативную фазу» слизистой матки. Специфические изменения матки по сравнению с контрольной показаны на рис. 87.

Эта проба весьма демонстративна и представляет до известной степени уточнение пробы Аллена—Дуази. Следует также отметить работы Лакера, Цондека, Леве, Липшитца, Кохмана, Тренделенбурга и др., посвященные уточнению количественной стороны пробы Аллена-Дуази, установлению зависимости между ее результатами и способом введения гормона и т. д. В заключение надо

Рис. 87. Стандартные микрофотограммы «фазы пролиферации» слизистой матки инфантильных кроликов для биологической проверки фолликулостерона. Слева — срез матки контрольного животного; справа — то же, но животного, получавшего 6×25 *ME* крист. фолликулостерона.

упомянуть, что в 1932 г. была введена по постановлению Гигиенической комиссии Лиги наций интернациональная единица фолликулостерона, обозначаемая как:

$$1\ IE = 0{,}1\gamma \text{ (гаммы)}$$

«международного стандартного препарата «фолликулостерона», хранящегося в Лондоне под названием «эстрина».

Соответственно приводится пересчет на мышиные и кроличьи единицы:

$$IE = 0{,}1—0{,}15\ \gamma \text{ обычного кристалического фолликулостерона}$$

$$1\ IE = 5\ ME = 0{,}15\ KE.$$

Таким образом, фолликулостерон является стандартным препаратом женских сексуальных гормонов, и дозировка его в настоящее время введена в твердые формальные нормы, аналогичные нормам Фармакопеи. Этим положено, следовательно, основание для его терапевтического применения в клинике.

Проба Аллена — Корнера — Клауберга — Гольвега на лутеостерон. Эта проба основана на том, что у инфантильных

кроликов дачей фолликулостерона искусственно создается пролиферативная фаза слизистой матки, после чего дается стандартизуемый препарат лутеостерона. Этим сберегаются как животные, так и повторные гистологические исследования матки. На подробностях морфологической картины матки, соответствующей фазам пролиферации и фазе секреторной, типичной для действия лутеостерона, я не буду здесь останавливаться. 1 КЕ — одна кроличья единица — есть та общая доза лутеостерона, которая при 5- дневной инъекции в масле подряд ежедневно под кожу инфантильным кроликам весом от 600 до 800 г переводит слизистую матки из стадии пролиферации (рис. 87) в секреторную фазу, показанную на микрофотограммах рис. 88. На одну дозу должно быть взято не менее 3

Рис. 88. Стандартные микрофотограммы «фазы секреторной» слизистой матки инфантильных кроликов, служащие для биологической проверки препаратов лутеостерона (проба Аллена-Корнера-Клауберга-Гольвега). Слева — стадия слизистой II (дача 0,75 mg лутеостерона). Справа — стадия слизистой III — полное превращение (дача 1 *mg* лутеостерона).

животных, у двух из которых обязательна положительная реакция.

Эта проба конкретно проводится следующим образом: трем кроликам (на 1 дозу) инъецируется подкожно ежедневно в течение 6 дней по 25 МЕ кристаллического фолликулостерона, затем один день после последней инъекции делается пауза, после чего 5 дней подряд таким же образом ежедневно вводится испытуемый препарат лутеостерона, растворенный в масле.

Длительность пробы—12 дней, а при условии, если животные подготовляются еженедельно,— 6 дней. На 12-й день животные убиваются и микроскопируются поперечные срезы рогов матки. Необходимым контролем является установление в отдельной пробе Аллена—Дуази с препаратом лутеостерона отсутствие в нем фолликулостерона.

Оценка пробы проводится следующими обозначениями:

0 — нет превращений слизистой (рис. 87а)

1 — начало превращений
2 — ясно выраженные изменения (рис. 88а)
3 — полное превращение в секреторную фазу (рис. 88б).

Изложенная проба для биологической стандартизации лутеостерона одинаково оправдала себя с естественными и с синтетическими его препаратами.

В заключение представляет интерес сопоставить определенные по одному и тому же способу (проба Аллена—Дуази и проба Аллена — Корнера — Клауберга — Гольвега) активности препаратов фолликулостерона и лутеостерона и их исходных материалов.

Для фолликулостерона:

I МЕ — мышиная единица = 0,025 γ = 0.000025 мгр кристаллич. фоллик. гормона
I МЕ „ „ = 0.05 куб. см. мочи беременных
(I КЕ — кроличья единица = 40 МЕ)

Для лутеостерона:

I КЕ — кроличья единица = 750 γ = 0,75 мгр кристал. естественного гормона
I КЕ — кроличья единица = 500 γ = 0,5 мгр крист. синтетич. гормона
I КЕ — „ „ около 2000 грамм яичника свиней

Для осуществления у взрослой половозрелой женщины 4-х недельного полового менструального цикла со всеми превращениями в первичных и вторичных ее половых признаках требуется: 1 миллион IE = 100—150 мг кристаллического фолликулостерона и 50 КЕ = 25 мг синтетического лутеостерона. Эти количества могут быть приняты как «физиологические дозы», исходящие из единиц стандартизации кристаллических стеронов описанными методами. Они кладутся в основу современного лечения женскими сексуальными гормонами.

Заканчивая этим разбор биологической стандартизации женских стеронов, я хочу упомянуть о замечательном исследовании Шеллера и Гебеля, которые доказали, что применение кристаллического фолликулостерона на растениях (луковицы гиацинтов и др.) в дозах, начиная от 5 МЕ, дают эффект развития, цветения и «полового» цикла у последних. Замечательно, что цветение таких растений не достигает естественных размеров (величина чашечки цветов и пр.), но цветы в отношении своих «половых» признаков вполне созревают вплоть до образования семян. При этом цветение протекает осенью и даже зимою. Не говоря о практическом значении этих работ для растениеводства и всхожести семян, здесь представляет интерес новый принцип возможной стандартизации фолликулостерона, совершенно не требующий дорого стоящих животных.

2. Физиологическая проверка действия препаратов мужского сексуального гормона

Бóльшая часть методов биологического контроля мужского сексуального гормона покоится на старых наблюдениях, по которым при кастрации молодых самцов вследствие прекращения продукции гормона исчезают вторичные половые признаки или, по меньшей мере, они не разиваются далее. При введении таким животным препаратов гормона возможно задержать регрессивные изменения этих признаков, а если они уже наступили, то заставить их претерпеть обратное развитие. На первом принципе покоятся «профилактические пробы», на втором — «репараторные пробы». Другая возможность проведения биологического контроля заключается в том, что у инфантильного животного с не функционирующими половыми железами дачей полового гормона вызывают образование вторичных половых признаков. В сущности этими примерами и ограничиваются принципы тех методов биологической проверки гормональных препаратов мужской половой железы, которые распространены и приняты в обиходе эндокринологов и биохимиков. Я остановлюсь здесь по порядку на тех, которые наиболее часто применялись, а в заключение позволю себе критически их оценить и выделить наиболее надежные из них.

1. *Проба Мак Картней-Джемса* (Mc Cartney-James) основана на приобретении самцами лягушек специфического полового рефлекса. I единица (FE) есть то минимальное количество гормона, которое при инъекции его в лимфатический мешок взрослым зимним самцам лягушек вызывает «половой рефлекс» в смысле наблюдений Нуссбаума, Гармса и др физиологов, впервые установивших этот феномен. Специфичность этой пробы, однако, сомнительна. Прочие пробы, предложенные также на холоднокровных, преимущественно рыбах [пробы Глазера и Гемпеля (Glaser — Hämpel), Вундера (Wunder), Стэнлея и Тэчера (Stanley — Tescher)], отличаются своей неспецифичностью и сложностью и здесь приводить их нет смысла.

Большинство более распространенных проб имеют своим объектом теплокровных животных (млекопитающих). Однако опыты на крысах, морских свинках, мышах убеждают, что ни один из этих объектов не дает удобного и надежного в смысле специфичности метода. Предложенные Уонгом и Госкинсом (Wang — Hoskins) пробы на неполовозрелых крысах, пробы Леве и Фосса, сводящиеся к наблюдению за превращением у кастратов-кроликов их полового члена в нормальный орган (рост penis'a) и т. п. неудобны прежде всего своей очень большой длительностью. Другая серия методов покоилась на тех же объектах, но предметом наблюдения служили самые разнообразные,

добавочные органы полового аппарата самцов. Фуссгэнгер (Fussganger) приводит сводку этих методов в виде небольшой таблицы, связывая ее с именами исследователей:

Prostata (предстательная железа) — пробы Мура — Галлахера, Прайса и Коренчевского с Штейнахом;
Железы Купера — проба Геллера (Heller);
Vas deferens — пробы Бенуа, Мура, Галлахера;
Препуциальные железы — проба Леве и Фосса.

Проба на крысах Мура — Галлахера длится, для примера, около 4 месяцев. Не менее удобны пробы Прайса и Геллера.

Большего внимания заслуживают опыты с семенными приборами и железами. К ним я и перейду.

2. *Проба Леве и Фосса* (Loewe — Voss), или так называемая «цитологическая регенерационная проба» и ее модификация — «митогенетическая проба». Она покоится исключительно на тех морфологических изменениях, которые претерпевают клеточные элементы полового аппарата после кастрации. Это прежде всего имеет место в клетках препуциальных желез, которые показывают картину атрофии.

1 единица (CR — проба I) на мышином самце, кастрированном за 4 недели до начала инъекции, соответствует тому количеству гормона, которое при 10-дневной продолжительности ежедневных инъекций дает полную регенерацию атрофированных клеток желез крайней плоти.

1 единица (CR — проба II) проводится с той разницей, что инъекции продолжаются 3 дня; через 2 суток после последней инъекции животные убиваются и проводится микроскопическое исследование с целью установления начинающейся регенерации.

1 единица (CR — проба III) соответствует «митогенетической пробе, где авторы для еще большего сокращения времени в качестве критерия действия гормона берут в одном определенном поле зрения гистологического среза среднее число митозов, наступившее в клетках желез после того, как животные за 48 часов до исследования получили однократную инъекцию гормона.

Проба Леве и Фосса обещает быть весьма удобной, особенно ее «быстрые модификации» — II и III, но она может быть осуществлена только при условии пользования ею опытным гистологом. В руках молодого и не имеющего большого опыта работника она не дает удачных результатов.

3. *Проба на семенные пузырьки* предложена многими авторами: Лакером, Муто-Шуи (Muto — Chuij), Мартинсом и Роха и Сильва, Амсоном (Amson), Динезли и Парксом (Deanesly — Parkes), Коренчевским и др. Этот метод покоится на увеличении под влиянием гормона веса после кастрации самцов-мышей атрофированных семенных пузырьков и предстательной железы.

1 единица (SB — E), предложенная Лакером, соответствует тому минимальному количеству гормона, которое при двукратной инъекции в течение одного дня самцам крыс (весом 25—45 г) увеличивает вес семенных железок более чем на 18 мг при условии, что инъекции были начаты не ранее 4-го и не позже 7-го дня после кастрации.

4. *Проба на эйакуляцию* (Ejakulationstest) предложена Муром и Галлахером и проверена Куруа-Киви (Curoy Quivy) и Кабак (Kabak). Она основана на том, что при пропускании через голову морской свинки электрического тока вскоре наступает эрекция полового члена и извержение семени (Ejakulatio). Главная масса эйакулята представляет беловатую массу секрета семенных пузырьков, которая быстро застывает. У кастрированных свинок-самцов, наоборот, масса изверженного секрета никогда не застывает. При даче гормона, как это наблюдал Бателли (Batelli), снова происходит застывание.

Несмотря на свою простоту, эта проба мало объективна, сложна выполнением и, кроме того, не всегда удается.

5. *Проба на жизненность спермий* (Бенуа) сводится к тому, что у самцов морских свинок при удалении одного яичка спермии в соответствующем добавочном яичке живут еще 60 дней, а при полной кастрации — всего 23 дня. При даче таким кастратам препаратов гормона спермии выживают более 23 дней. Эта проба помимо сложности и малой убедительности мало пригодна также из-за ее длительности. Подобные пробы на живость и подвижность спермий также не получили распространения.

Из дальнейших работ по выработке подходящих проб можно упомянуть ради, может быть, исторического интереса, пробы Мартинса, основанные на исследовании «клеток кастрации» в гипофизе кастрированных животных, пробы Шампи на реакцию полового члена уток при даче гормона, а также многочисленные мало убедительные пробы, основанные на наблюдениях, что вследствие кастрации меняется газообмен животного (проба Перитца). Несколько иной путь избрали Лендле (Lendle), Иркэ и д'Амур (Ihrke — d'Amour), которые выдвинули «антимаскулинную пробу», основанную на том, что тестикулярный гормон подавляет у нормальных самок (крысы, мыши) процесс течки.

Из приведенного материала видно, что несмотря на запросы клиники, не удалось выработать ни одного способа биологического контроля мужского полового гормона, который был бы надежным и удовлетворял бы условиям осуществимости его в массовом опыте на млекопитающих животных. Важнейшим, наиболее часто применяемым методом проверки тестикулярного гормона, дающим надежные результаты, является проба Чикагской школы на кастрированных петухах.

6. *Проба на петуший гребешок* Чикагской школы основана

на том факте, что если кастрировать молодого петушка, то его «вторичные признаки» — гребень, шпоры и ушки — останавливаются в своем развитии и не краснеют. Дача гормона яичек нацело уничтожает эти последствия кастрации. Это наблюдение, сделанное еще Пезаром, было в 1927 г. впервые применено для целей выработки пробы на тестикулярный гормон чикагскими исследователями — Мак Ге, Джуаном Доммом, Галлахером, Кохом (Mc Gee — Juhn — Domm — Gallagher — Koch). Они применяли совершенно кастрированных петушков-леггорнов в возрасте от 1 до 3 лет и определили 1-й действующей единицей то количество ежедневно вводимого гормона, которое необходимо, чтобы в течение 5 дней минимум у пяти подобных петухов получить средний рост гребня в 5 мм длины и высоты. При этом авторы указали, что свет оказывает на рост гребня задерживающее влияние. Окончательная модификация и всесторонняя проверка этой пробы принадлежит Лакеру и его сотрудникам, особенно де-Фремери (de Fremery). Последний дал более простой способ измерения роста гребня петушков путем фотографирования в профиль тени гребня с последующим планиметрическим расчетом его поверхности.

I действующая единица гребешковой пробы, широко принятая теперь для характеристики активности тестикулярного гормона, предложена Лакером и соответствует наименьшей дневной дозе, дача которой по меньшей мере трем кастрированным петушкам в возрасте до 2 лет в течение 4 дней подряд, на пятый день не менее чем у $^2/_3$ животных вызывает прирост гребешка на 15%. Эта единица обозначается для упрощения НЕ — «петушиная единица».

Проба была в дальнейшем применена большинством исследователей для стандартизации получаемых ими препаратов мужского сексуального гормона, причем почти каждый из них вводил в эту методику свои какие-либо изменения (Функ-Гарроу, Бутенандт, Шеллер-Герке, Кабак, Доддс — Гринвуд — Галлимор, Завадовский и др.). Основная методика этой «петушиной пробы» по Галлахеру с модификацией де-Фремери оставалась в принципе неизмененной, варьировали лишь количественные соотношения. Поэтому представляется возможным здесь, не входя в дальнейшие из изложенного выше понятные подробности, дать характеристику модификаций, предложенных для этой пробы каждым из приведенных выше авторов. Это показывает нижеследующая таблица.

Описанная «проба на петушиный гребень» отвечает всем тем требованиям, о которых говорилось в начале этой главы и которые должны быть предъявлены к биологичес-

Таблица

Авторы	Число применяем. инекц. гормона по дням	Отсчет роста гребня производимый фотопланиметрически	Индикатор прироста гребешка (1—НЕ)	Число подопытных животных
Галлахер—Кох (1930 г.) . .	5 дней	на 5-й день	5 мм дл. и в.	5
Функ—Гарроу—Лейва (1930г.)	10 „	„ 11 „ „	10 мм длины	6
Лакер (1931 г.)	4 „	„ 5 „ „	15%	3
Шеллер—Герке (1931 г.) . .	2 „	„ 3 „ „	20%	3
Бутенандт (1931 г.)	2 „	„ 3 и 4-й „	30%	3
Чопп (Tschopp) (1931) . . .	6 „	„ 7-й „	20%	5
Ремезов—Тавастшерна (1935)	4 „	„ 2—5-й .	30%	5
Фуссгэнгер (1933)	5 „	„ 7-й „	30%	3

кой пробе на гормоны. Она специфична, требует мало времени, мало животных, и по исследованиям Галлахера, Лакера в пределах определенной полосы действия легко установить пропорциональность между величиною дозы гормона, длительностью его применения, размерами гребня и весом самого петуха. По окончании пробы животные через некоторое время могут быть использованы снова. Недостатки метода — дороговизна подобных животных, необходимость применения сравнительно больших количеств гормона на одну серию проб и невозможность пока переноса доз в клинику.

Важным моментом является применение петухов одного цвета и одной и той же породы (напр. леггорны), у которых кастрация должна быть абсолютной. По окончании пробы в качестве контроля обязательно должно быть наблюдение, что гребень у подопытных петушков снова вернулся в прежнее состояние атрофии и задержки роста. Таких петухов по истечении примерно 1 месяца можно снова брать в опыт. Пик и Рейсс (Pick — Reiss) указывают путем сравнительно простой капилляроскопии на то обстоятельство, что капиллярный рисунок гребешка нормальных и кастрированных петухов имеет характерные различия, причем дача гормона обусловливает у кастрата нормальную картину капилляров гребешка. Специфичность этого действия убедительно показана, так что есть все основания предположить, что этот способ найдет после его дальнейшей проверки более широкое применение вследствие простоты, быстроты и объективности применяемого способа капилляроскопии, по сравнению с фотопланиметрическими измерениями величин гребня.

Резюмируя разбор всех изложенных проб биологической оценки препаратов тестикулярного гормона, приходится считать лучшей «пробу на петушиный гребень».

Придя к такому заключению, следует дать некоторый фактический материал и привести для примера описание опыта стандартизации андростерона помощью этого способа.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТЕСТИКУЛОСТЕРОНА

Быстрая проба представляет собой «пробу на петушиный гребешок», описанную Шеллером и Герке,

1 НЕ — петушиная единица — соответствует здесь тому количеству гормона, которое при даче его ежедневно в растворе масла трем кастрированным петухам в течение двух

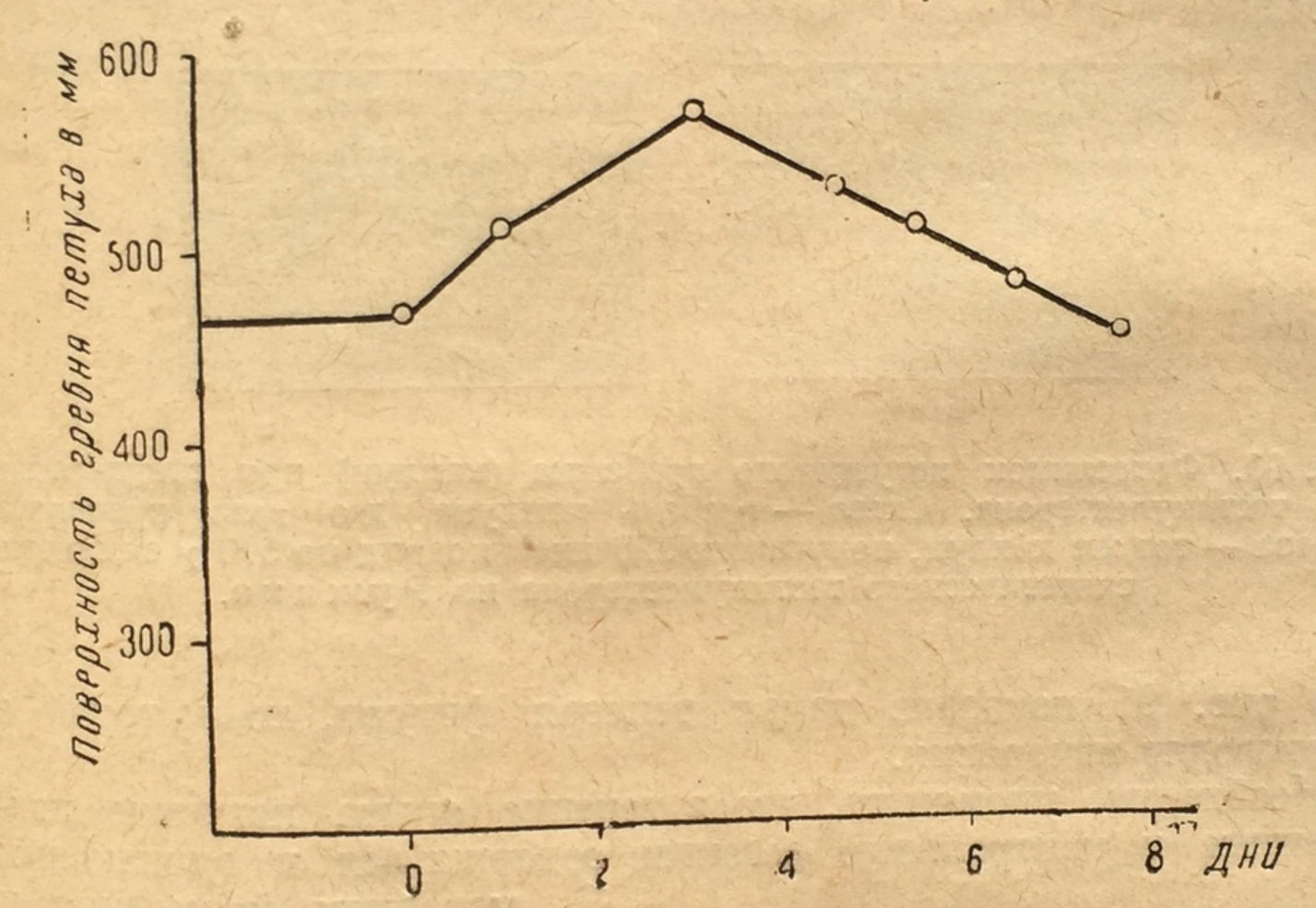


Рис. 89. Кривая роста петушиного гребешка при стандартизации тестикулостерона. Дача 200 γ ежедневно в течение 2 дней.

дней на третий день дает рост гребешка на 20% минимум у двух из взятых в опыт животных.

Для опыта берутся одинаковой породы (леггорны) и одного цвета три петуха в возрасте не старше 2 лет, после кастрации которых и полной остановки в развитии гребешка перед дачей гормона производится фотографирование тени профиля гребешка на определенном фиксированном расстоянии от пластинки, после чего измеряются в квадратных милиметрах планиметрические размеры гребня. После этого препарат гормона, растворенный в 1—2 см³ масла (Ol. olivarum) инъецируется однократно подкожно в течение двух дней. На третий день производится та же фотографическая съемка гребня и измерение его размеров. Полученные результаты могут быть демонстративно показаны в виде кривой (рис. 89).

Протокол опыта, дающего кривую рис. 89, следующий:

1-й день дано 2 см³ гормона = 200 γ
2-й день » 2 » = 200 γ
Размер гребня до опыта: 440 мм²
Размеры гребня на 3-й день: 540 мм²
Прирост составляет 23%

Общее представление об анатомической картине дают фотографии гребня подобного петуха, приведенные на рис. 90. Отношения достаточно демонстративны без дальнейших пояснений.

Для планиметрического измерения, как было указано, фотографируется профиль тени гребешка, которая затем обводится.

Рис. 90. Фотоснимок петушиного гребешка (каплун) при стандартизации тестикулостерона. Слева — гребень каплуна до дачи препарата; Справа — тот же каплун, получавший 20 дней подряд по 500 γ ежедневно синтетического тестикулостерона по Ружика.

На рис. 91 показана такая теневая фигура, по которой и производят измерения.

Необходимо упомянуть, что в течение опыта петушки подопытные и контрольные должны содержаться в одинаковых условиях кормления и освещения, оберегаемые от прямого солнечного света. По окончании дачи гормона их выдерживают около $1^1/_2$ месяцев, чтобы убедиться в том, что гребень подвергся снова обратному развитию и вернулся в свое первоначальное состояние.

Рис. 91. Силуэт петушиного гребешка, снимаемый с опытных каплунов при стандартизации препаратов тестикулостерона.

Медленная проба проводится по методу Функа, Гарроу или Чоппа. Заслуживает, однако, особого внимания опыт проведенный Ружика, дающий надежные результаты, весьма при этом демонстративные. Однако он пригоден только при наличии больших количеств гормона и поэтому является как бы завершающим после постановки серии «быстрых

проб». Двум кастрированным петухам (данные, как в предыдущем случае) вводится ежедневно подкожно по 500 γ гормона, растворенного в 0,5 см³ оливкового масла в течение 20 дней без перерыва. При применении андростерона, синтезированного Ружикой, размеры гребня у петухов достигли с первоначальных (до дачи гормона) 650 мм² до 2 020 мм²., т. е., следовательно, увеличились более чем в три раза. По окончании инъекции гормона (21-й день) рост гребня продолжался еще 4 дня, затем он постепенно падал и через 2 месяца достиг своей первоначальной величины. Картину этих изменений дает взятая из работ Ружики кривая, на рис. 92.

Вторым способом, могущим служить для медленной пробы и стандартизации андростерона, следует рекомендовать

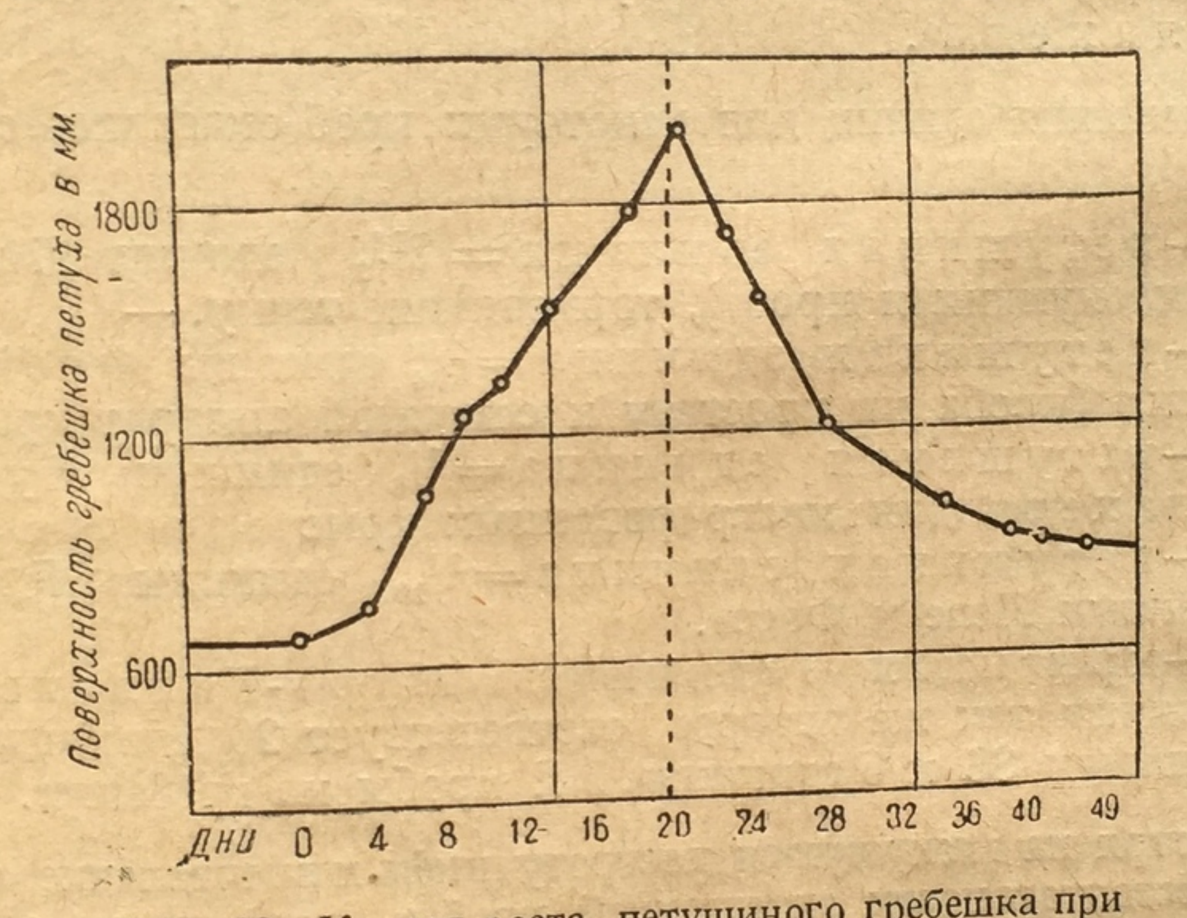


Рис. 92. Кривая роста петушиного гребешка при даче синтетического тестикулостерона подряд 20 дней по 500 γ ежедневно (по Ружика).

изложенную выше пробу Леве—Мартинса на вес семенных пузырьков взрослых кастрированных крыс. Эта проба проводится следующим образом: 10 самцам взрослых белых крыс за 4—6 месяцев до начала пробы производится полная кастрация. Ежедневная доза гормона в 30 γ в течение 14 дней подряд приводит к весу семенных мешочков в 30—40 мг (среднее от 10 крыс), в то время как у контрольных крыс, не получавших гормона, вес их составляет всего 10 мг (среднее от 10 крыс). Дача дозы в 60 γ в тех же условиях в течение тех же 14 дней дает вес в 70—80 мг Во всех случаях наблюдается секрет в просвете мешочков, регенерация penis'a, предстательной железы и рост шерсти.

Ниже приводится сводка единиц наиболее заслуживающих внимания проб на биологическую активность и андростерона

в отношении их взаимосвязи и чувствительности. Правда, необходимо оговориться, что такое сравнение чисто относительно, так как нельзя всегда установить точных соотношений между единицами. Располагая в ряд, по признаку чувствительности к гормону, получаем следующую таблицу:

НК — «проба на петушиный гребень»
CR — «проба на цитологическую регенерацию Леве и Фосса» и митогенетическая проба.
SS — «проба на семенные мешочки и простату Леве — Мартинса и Коренчевского».
ET — «проба на эйакуляцию Мура и Галлахера».

Соотношения единиц для некоторых проб оказались следующими:

I НЕ — петушиная единица $= 2^1/_2$ единиц Лендле (антимаскулинная проба), тормозящих течку. —
I НЕ — петушиная единица $= {}^1/_4$ единицы Фрейда — Мюнха (проба на простату и семенной аппарат крыс).
I НЕ — петушиная единица $= {}^1/_6$ единицы Мура и Галлахера для кастрированных крыс
I НЕ — петушиная единица $= {}^1/_{10}$ единицы CR и SM по данным Леве и Фосса.
I RE — крысиная единица Мура-Галлахера — по данным тех же авторов соответствует 20 единицам SR, 6 единицам SS и 6 единицам НЕ пробы на гребешке.

Несмотря на кажущуюся пестроту цифр и впечатление о малой чувствительности «петушиной пробы», последнюю, однако, ввиду ее особой специфичности и учитывая макроскопический характер констатируемых при ней изменений, надо поставить по сравнению с прочими (по преимуществу микроскопического характера) на первое место и предпочесть всем остальным. Однако была бы желательна разработка капилляроскопии гребешка по способу, предложенному Пиком и Рейссом, так как этот способ исследования гребня возможно еще более повысит чувствительность «петушиной пробы» и одновременно значительно упростит методику, заменив фотографирование с планиметрией наблюдением в капилляроскоп и лишь в случаях особо объективного подхода — с дополнительным микрофотографированием.

Важно сравнить в единицах пробы на петушиный гребень (НЕ) биологическую активность препаратов естественного тестикулярного гормона и синтетических препаратов андростерона. Нижеследующее сопоставление позволяет получить об этом представление:

I НЕ	петушиная единица	= 150 γ = 0,150 миллиграмма крист. тестикул. гормона (Бутенадта)
I НЕ	„ „	= 500 γ = 0,500 миллиграмма кристализата гормона (Фраттини-Маино)
I НЕ	„ „	= 8 γ = 0,008 миллиграмма кристализата гормона Лакера — подлежит проверке
I НЕ	„ „	= 70 γ = 0,070 миллиграмма синтетического гормона — андростерона (Ружика)

При сравнении синтетического андростерона Ружики с естественным тестикулином Бутенандта, но пользуясь одной мерой — НЕ — петушиной единицей по Бутенандту, оказывается, что оба препарата удивительно совпадают по своей физиологической активности.

I НЕ — единица пробы Бутенандта-Шеллера = 150—200 γ тестикулина Бутенандта

I НЕ — та же единица = 200 γ андростерона Ружики.

С другой стороны, расчет биологической активности исходных, содержащих гормон материалов (моча, яички), пользуясь одной и той же единицей активности в пробе Шеллера — Герке — Бутенандта, позволяет сравнить их с химически чистыми гормонами:

I НЕ — „петушиная единица пробы Шеллера-Бутенандта“		= 200 см³ мужской мочи;
I НЕ —	„ „	= 15 грамм свежих яичек;
I НЕ —	„ „	= 0,150 миллиграмма кристалл. тестикулина
I НЕ —	„ „	= 0,200 миллиграмма синтет. андростерона

Приведенные цифры достаточно красноречиво свидетельствуют о тех огромных успехах, которые сделала за последние годы химия половых гормонов, и одновременно подчеркивают все значение тех перспектив, которые в настоящее время открываются в практической медицине для лечения различных нарушений сексуальных функций мужчины.

ГЛАВА ПЯТАЯ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ СЕКСУАЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

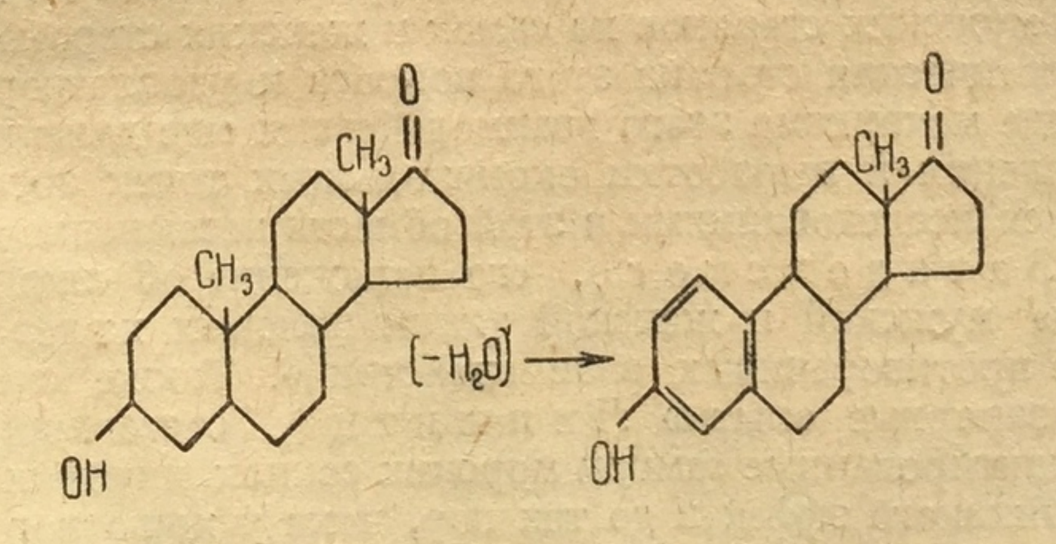
1. Общие сравнительно-биологические замечания

В кратком анатомическом очерке в первой главе этой монографии были показаны сравнительно эмбриологические особенности развития половых желез, являющихся местом образования сексуальных гормонов у обоих полов. При этом, важным фактом оказалось то замечательное обстоятельство, что закладка половых желез у зародыша является идентичной для обоих полов, и лишь позднее наступает дифференциация, отличающая тот или иной пол. Такое дифференцирование пола, заканчивающееся к моменту родов и начала самостоятельной жизни индивидуума, не касается более тонкой дифференцировки, справедливо не позволяющей считать детей до их половой зрелости окончательно определившимся полом. Ибо, как мы видели, все «мужественное», так же как и все «женственное», у данного индивидуума определяется игрой его сексуальных гормонов, эндокринной функцией его половых желез. Из физиологического и анатомического очерка половых желез можно было установить, что до наступления половой зрелости половые железы в эндокринном смысле находятся в состоянии покоя или очень медленной морфологической диференцировки половых клеток. Лишь с момента наступления периода полового созревания начинается бурный рост, морфологические превращения и окончательное завершение формирования структуры и функции этих органов. Этот период совпадает с началом эндокринной деятельности половых желез, выделение специфических сексуальных гормонов приводит к окончательной диференцировке пола, превращению ребенка в юношу или девушку.

Такова в общем физиологическая и морфологическая картина. Интересно сопоставить ее с теми химическими процессами, которые при этом имеют место. К сожалению, данных сравнительно биохимического изучения половых гормонов чрезвы-

чайно мало и поэтому здесь придется скорее делать общие заключения. Исследование Тавастшерна на неполовозрелых детях и животных показывают, что продукция сексуальных гормонов в этом периоде жизни не происходит вовсе или, по меньшей мере, происходит в таких количествах, которые биологической пробой не могут быть установлены. Если сопоставить этот факт с тем обстоятельством, что дети до периода половой зрелости в сексуальном отношении в норме не дают особых специфических проявлений пола кроме лишь анатомических признаков, то можно притти к выводу, что в этот промежуток времени, от родов индивидуума до его половой зрелости, образования гормонов пола (стеронов) не происходит, очевидно вследствие еще незавершенного формирования тех клеточных элементов, которые принимают на себя функцию продукции этих веществ. По мере того как это формирование заканчивается и наступает момент «полового созревания», начинается первое выделение стеронов в кровь, дающее стимул к окончательному проявлению пола, к половой жизни индивидуума.

Рассмотрение химического генезиса мужского и фолликулярного женского сексуального гормона приводит к мысли о том, что оба стерона имеют идентичный механизм своего образования в организме обоих полов. Что это действительно так, говорит не только структура обоих стеронов, но также ряд находок последних у противоположных полов. Уже указывалось выше, что в крови и моче мужчин возможно найти «фолликулярный гормон»; одновременно в организме женщин доказывается «тестикулярный гормон». Леве предполагает, что оба стерона вообще образуются в организме в определенных пропорциях один наряду с другим. Если исходить из его точки зрения, то приведенные в главе второй схемы химического генезиса стеронов можно было бы объединить, установив общий механизм не только образования, но и их нахождения у обоих полов. Действительно, сравнение обеих структурных формул фолликуло-и тестикулостеронов позволяет думать о возможном образовании первого путем отнятия воды или дегидрирования с отщеплением одной CH_3-группы от молекулы тестикулостерона.



Соответственно необычайному сходству химической структуры имеет место по существу аналогичный, различный может быть только по силе, характер физиологического действия обоих стеронов. Оба, как мы видели, являются специфическими химическими факторами роста определенных клеток и тканей.

Из изложенного вытекает, что образование стеронов у мужчин и женщин идет по совершенно одинаковому пути, и лишь в силу специфических условий обмена веществ и, возможно, химизма самих клеток синтез стерона у мужчин достигает лишь стадии, соответствующей тестикулостерону, а у женщин идет еще дальше, достигая фолликулостерона (через фазу образования тестикулостерона)

Но тогда у мужчин нельзя было бы ожидать нахождения ненасыщенного стерона — фолликулостерона; у женщин наличие тестикулостерона было бы, однако, вполне объясненным. Также следовало бы ожидать при применении стеронов не антагонизма, у противоположных полов, а скорее синергизма в их действии.

Правда, Лакер и Фрейд указывают, что дача чистых препаратов фолликулостерона усиливает действие тестикулярного гормона у самцов. Аллансон (Allanson) тоже описывает опыты, где дача кристаллических препаратов фолликулостерона самцам не привела к какому-либо антимаскулинному эффекту.

Но подавляющее большинство фактов говорит за то, что изложенные выше предпосылки об идентичном механизме образования обоих стеронов не вполне справедливы. Несомненно наличие обоих стеронов у обоих полов, но также несомненно антимаскулинное действие фолликулостерона и маскулинизирование самок дачей тестикулостерона. Дело заключается, очевидно, не в идентичном, а в очень близком, принципиально аналогичном механизме образования и действия обоих стеронов.

Проблема физиологического взаимодействия обоих стеронов настолько сложна, что притти к каким-либо окончательным выводам еще нельзя. Несмотря на однозначный в общем экспериментальный материал опытов по изучению действия мужских стеронов на самок и женских стеронов на самцов, теоретическая сторона этого вопроса и удовлетворительное толкование механизма этого взаимодействия еще далеки от своего завершения и выработки окончательных точек зрения. Выдающимися исследованиями в этой области несомненно являются работы Завадовского, его положение об «эквипотенциальности» мужской и женской ткани половых желез и схемы «взаимно противоречивых взаимодействий». Также следует отметить «запорные опыты» Липшитца, состоявшие в том, что имплантированные самцам морских свинок яичники не оказывают никакого эффекта до тех пор, пока у животного еще со-

хранена функционирующая ткань яичек. Лишь после удаления последней наступает антимаскулинное действие яичников.

Антимаскулинный эффект фолликулостерона (доказанный еще в 1916 г Германном и Штейном) заключается в подавлении половых признаков самца и даче им женственных свойств (при условиях, указанных в опытах Липшитца). При этом действие гормона специфически-химическое в том смысле, который мною здесь неоднократно оттенялся, как химического фактора роста специфических клеток и тканей В этом отношении я считаю особенно показательными опыты Рейприха (Reiprich), который у самцов кроликов добился стерилизации дачей препаратов фолликулостерона или трансплантацией яичников при сохранении и даже некотором повышении охоты к случке.

Известные опыты Штейнаха и Куна по маскулинизации самок дачей лутеостерона не имеет смысла приводить здесь подробнее. Важно установить, что дача чистого тестикулостерона вызывает доказанный многими исследователями маскулинный эффект у самок (Занд, Диттлер, Мак Картней), который действует, следовательно, противоположно фолликулостерону. Стерилизация самок, несомненно, возможна дачей тестикулярного гормона и имплантацией яичек (Рейприх, Франкль—Гальтер, Нейманн и др.). Известные опыты Мак-Картнея и Скалионе по предупреждению беременности или, по меньшей мере, ее задержке введением суспензии сперматозоидов покоятся на предположении так называемых «сперматоксинов». Но, повидимому, здесь речь идет не об особых продуктах, вырабатываемых сперматозоидами, а о специфическом стерилизующем эффекте содержащегося в семенном эйакуляте мужчин тестикулостерона. В этом отношении, а также и с точки зрения выработки удобного способа предупреждения беременности — важны прямые опыты с введением чистых препаратов тестикулостерона женщинам до совокупления.

Наиболее демонстративный объект для доказательства антагонистического действия обоих стеронов представляют собой опыты Б. Завадовского. Возможно без труда вызвать изменения вторичных половых признаков дачей стеронов самцам получая у петухов оперение курицы. Повидимому, то же действие сексуальных гормонов определяет случаи гермафродитизма, подтверждая единство закладки половых желез и их функций в разрезе эндокринной деятельности. Наконец, представляют интерес также опыты на растениях, которые до известной степени дают аналогичную изложенной выше картину взаимодействия половых гормонов у мужских и женских цветов.

Резюмировать весь приведенный сравнительно биологический материал мне кажется возможным следующим образом: оба стерона обладают остро направленным действием на рост специ-

фических клеток, лежащих в основе органов и тканей вторичных и первичных половых признаков обоих полов. Сравнительно эмбриологические данные не исключают возможности того, что в диференцированном в половом отношении организме имеются наряду с клетками, специфическими для данного пола, также группы морфологических элементов, могущих определять вторичные половые признаки противоположного пола, но развитие которых при нормальной функции организма не имеет места, так как эти клетки подавляются в смысле химической динамики действием стерона данного пола. Очевидно, можно предположить наличие морфологических элементов, входящих в половые признаки организма, которые химически различно «настроены» относительно определенного раздражителя: одни подавляются в своем развитии его действием, другие, наоборот, им усиливаются. Если исходить из этих предпосылок, то тогда окажется, что «антагонизм», или взаимное противодействие мужских и женских стеронов, не является химическим антагонизмом определенных химических группировок или различным механизмом их действия: оба стерона по структуре, по образованию их в аналогичной для обоих полов фазе обмена веществ, наконец, по характеру своего прямого действия на организм — почти идентичны и вовсе не антагонистичны. Действие обоих веществ характерно как стимулирующее рост определенных клеток и тканей. Антагонизм же является физиологическим, зависящим исключительно от среды, где развертывается одинаковое по принципу, различное по силе (ненасыщенный стерон активнее насыщенного) и направленности действие обоих стеронов. Они являются раздражителями, прямыми стимуляторами роста и развития только тех клеток и тканей, которые «настроены им в резонанс»: раздражению, вызываемому ненасыщенным фолликулостероном, отвечают усилением роста и развития те клетки и морфологические элементы, которые определяют так называемые «фемининные» признаки пола, в то время как противоположные или не развиваются или подавляются в своей функции роста. Обратное имеет место при даче насыщенного тестикулостерона — клетки, настроенные по отношению к раздражению, вызываемому им, преимущественно развиваются, определяя преобладание «маскулинных» морфологических признаков.

Предлагаемая схема механизма взаимодействия обоих стеронов относит, следовательно, антагонизм их исключительно к области физиологических и морфологических вопросов различия пола. Она получает свое подкрепление в тех данных, которые иначе не находили своего объяснения — в нахождении в организме женщин и мужчин не только гормона данного пола, но и гормона противоположного пола. Совершенно очевидно,

что имеющиеся в норме формы, размеры и общая картина половых различий полов определяются именно тем постоянным противодействием однобокому развитию только «мужских» или только «женских» признаков, которое оказывает на соответствующие клетки противоположный стерон. С этой точки зрения можно было бы говорить о своего рода нормальной «мужественности», в сущность которой должна входить определенной долей «женственность», и обратно. Всякое отклонение в ту или иную сторону будет тогда патологией, которую столь часто можно встретить у людей. Вопрос о механизме образования у данного пола наряду с специфическим для него также и противоположного стерона, остается еще неразрешенным и относится к проблеме химического генезиса образования стеронов в животном организме вообще. Как мы видели, по своему интересу и по тем вопросам, которые с ним связаны, его разрешение должно стать в центре внимания исследователей биохимиков и физиологов, занимающихся эндокринологией и вопросами химии половых гормонов.

2. Роль стеронов в проблеме роста и старения

Мысли, изложенные выше, а также в главах, посвященных биохимии стеронов, приводят, естественно, к вопросу о тех взаимоотношениях и взаимном действии, которые должны существовать в физиологическом, и в химическом смысле между стеронами и химическими регуляторами роста и жизненного тонуса организма вообще.

Уже указывалось, что рассмотрение стеронов как «химических факторов специфического организованного роста» приводит к общей проблеме химизма роста и к сопоставлению их с химическими факторами неорганизованнного, злокачественного роста, а также с прочими агентами роста в организме (витамины, прочие гормоны). На рассмотрении существующих здесь взаимоотношений я не буду останавливаться, так как это представляет собой предмет другой самостоятельной, посвященной только этим вопросам, моей работы[1]). Предварительные результаты еще окончательно не законченных работ Тавастшерна, по изучению влияния фолликулостерона и тестикулостерона на рост клеток в культурах in vitro доказывают, во-первых, бо̀льшую силу действия первого по сравнению с силой второго на одних и тех же элементах; во-вторых, несомненно, что тестикулостерон как стимулятор роста обладает значительно большей избирательностью, на его стимул настроены только очень узко диференцированные и определенные клетки и ткани, в то время как на стимул фолликулостерона может отвечать значительно большее количество клеток и тканей; в-третьих, с определенных промежуточных

---

[1] И. Ремезов, Химические факторы роста (в печати —1936 г.)

стадий синтеза этих соединений выделяемые продукты начинают показывать в подобных опытах общий стимулирующий рост клеток эффект без специфической избирательной способности в отношении каких-либо, только определенных категорий клеток и тканей. Все это имеет значение не только для разбираемых здесь вопросов, но и для вопросов химии роста вообще.

Многое говорит за то, что в процессе роста и развития организма первая стадия — от момента появления на свет до наступления половой зрелости — регулируется химическими факторами роста типа витаминов и химически еще мало изученных, т. н. „организаторов", вторая стадия — от момента наступления половой зрелости до прекращения половой функции (климактерий женщин, старение мужчин) — определяется преимущественным, строго дифференцированным ростом половых признаков организма, регулируемым сексуальными гормонами; для последней стадии — увядания организма, повидимому, менее характерно постепенное угасание роста его клеток и тканей и прекращение продукции химических стимуляторов роста, но скорее важны совершенно особые химические и морфологические превращения, наступающие в организме и направляющие химический механизм роста в особые формы.

Переходя таким образом к проблеме старения в связи с химией стеронов, я остановлюсь только на принципиальном вопросе о возможности задержки или замедления процесса старения путем искусственной стимуляции элементов роста в организме комбинированным применением половых гормонов. Я уже в самом начале этой монографии занял определенную позицию в отношении работ по «омолаживанию», здесь я уточню те положения, которые были там выставлены. Предполагаемый механизм действия стеронов вообще, исключает постановку вопроса о возможности «омоложения» применением у дряхлых стариков стеронов. Причина необычайно проста и заключается в том обстоятельстве, что проблема старения не есть только проблема химии веществ, подобных стеронам, а есть проблема тех неминуемых физико-химических деструкций, которые претерпевает животный организм, в частности его клетки и ткани. Эти деструкции, по всем данным судя, к сожалению ирреверсибельны и поэтому при современном состоянии биологических наук вопросы «жизненного элексира» или «вечной юности» есть или мечты любителя воздушных замков или неприкрытое шарлатанство, если они преподносятся с научной точки зрения.

Единственно о чем может итти речь, это о резкой стимуляции тонуса и жизненных функций у преждевременных стариков или у дряхлых, в обоих, однако, случаях с тем, что вслед за этим, по исчерпании вызванных к развитию резервных сил организма, наступает тем большая реакция, еще большее углубление

старческого маразма, что и было доказано воочию экспериментами Штейнаха, Воронова и других. Поэтому в вопросе о возможностях применения стеронов в проблеме старости, нужно, очевидно, исходить из того факта, что в дряхлеющем организме клетки, настроенные на стимулирующий эффект, регрессировали или частично уже подверглись специфическим морфологическим превращениям. Поэтому, если даже частичный эффект и может иметь место при условии, что часть отвечающих на стимул стерона клеток сохранилась, механизм действия стерона будет иным, чем в обычных условиях нормально функционирующего в половом отношении организма. Результат действия стерона здесь совершенно неизвестен, а вероятность того, что специфический стимул может перейти в общий стимул роста, очень велика. Последнее ведет лишь к временному общему подъему сил организма и тем большему последействию, особенно если был исчерпан запас резервов организма, который еще смог быть мобилизованным. С другой стороны, подобный объект опыта стоит под прямой угрозой, о которой при современных знаниях химии стеронов необходимо особенно твердо заявить — под угрозой того, что стимул роста, данный стероном, может своим следствием иметь развертывание неорганизованного роста и привести к злокачественным новообразованиям.

Единственное, что на мой взгляд имеет все основания быть разработанным со всей тщательностью в клинике, это периодическое, строго дозированное применение стеронов как фактора, повышающего общий тонус при явлениях преждевременного старения молодых субъектов, о чем подробнее будет указано в приложении, посвященном клинике сексуальных гормонов.

Иначе обстоит дело с вопросом о чисто теоретической роли стеронов в механизме старения. Здесь значение этого фактора не должно быть преуменьшенным. Несомненно, что угасание нормального выделения половых гормонов для процесса старения имеет огромное значение. К сожалению, вопрос в таком разрезе еще совершенно не изучен и не исследован, здесь необходимы систематические работы, которые одновременно оплодотворили бы как проблему химии стеронов, так и проблему химизма процессов старения.

ГЛАВА ШЕСТАЯ

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ГОРМОНЫ ПОЛА

Характеристика химических факторов специфически направленного роста была бы неполной, если я ограничился бы только изложением специфических гормонов пола — стеронов. Не меньший интерес представляют еще так называемые неспецифические гормоны пола, или «проланы», но, к сожалению, здесь и химическая и физиологическая стороны вопроса оставляют желать многого. Химия этих веществ мало разработана и, повидимому, следующий этап работы химиков, занимающихся гормонами, будет заключаться в раскрытии химической природы этих соединений. Неспецифический характер проланов заставляет думать, что они образуются в организме у обоих полов путем одинаково идущего процесса. Поэтому изучение химии пролана обогатит одновременно химию гормонов пола и биохимию вообще.

1. Физиологическая характеристика гормонов передней доли гипофиза (HVL)

Гипофиз как орган внутренней секреции был установлен уже в 1897 г. (Минковский, Пьерр—Мари). Физиологическое изучение этого органа покоилось, как при всех обычных способах изучения эндокринных систем, на опытах с экстирпацией его у животных. Я не буду здесь останавливаться на анатомических и чисто морфологических особенностях этой эндокринной железы — подобные сводки чисто эндокринологического характера даны многими авторами (Бидль, Цондек, Ашнер, Бруа, Эванс, Берлингер, Новак и др.). Точно установлено, что этот орган является местом продукции множества гормонов, различных в зависимости от чисто морфологического признака: передней или задней доли гипофиза. Следствием расстройства его эндокринной функции являются особые заболевания: «акромегалия», или гигантизм, обусловленный гормоном роста, «Dystrophia adiposogenitalis», точно так же

как и «гипофизарная кахексия», есть следствие выпадения гормонов, регулирующих обмен веществ, в частности жировой. Как показало более детальное изучение этих расстройств, они вызываются нарушением эндокринной функции передней доли гипофиза, которую я буду в соответствии с работами Цондека для краткости обозначать буквами HVL. Были выделены два самостоятельных гормона передней доли — гормон роста, вызывающий «гигантизм», а также нарушение роста половых желез, и затем неспецифический половой гормон, или так называемый «гонадотропный гормон». На разборе физиологического действия последнего я здесь и остановлюсь несколько подробнее. Главная заслуга Цондека и Ашгейма заключается в том, что им удалось выработать вполне надежную пробу на этот последний гормон. Во-первых, они доказали, что имплантация небольших кусочков передней доли гипофиза инфантильным мышам приводит к преждевременному созреванию в яичниках фолликулов, росту и увеличению матки и, наконец, к феномену течки во всех ее проявлениях. Однако в отличие от фолликулостерона, который вызывает эффект течки и у кастрированных животных, эффект здесь получается только при наличии способного к функции яичника. Следовательно, дело заключается в развязывании гормоном HVL какого-то сложного механизма, приводящего к указанным явлениям течки. Далее те же авторы доказали, что моча беременных женщин содержит в больших количествах, помимо фолликулостерона, также гормон HVL, причем моча только женщин. В моче беременных животных пролана не было до сих пор найдено. Этим был положен фундамент для общеизвестной и по надежности не имеющей почти прецедента (точность до 100%) реакции A—Z (Ашгейма и Цондека) для диагноза беременности в самых ранних ее стадиях. Она основана на том, что гонадотропный гормон появляется в больших количествах в моче беременных женщин чрезвычайно рано; для доказательства беременности испытуемая моча в количествах 0,2—0,4 см³ вводится подкожно шесть раз в течение $2^1/_2$ дней инфантильным (3—4 недельного возраста) мышам весом от 6 до 8 г. После вскрытия мышей яичники показывают раннее созревание. Множество позднейших модификаций этой реакции не идут в сравнение по простоте и надежности с изложенной оригинальной прописью Ашгейма и Цондека.

Одновременно следует разобрать биологическую пробу на гонадотропный гормон тех же авторов. В своей монографии эти авторы дают подробное описание реакции и пробы, и декларируют предлагаемые ими единицы: 1 RE и 1 ME — единицу крысиную и мышиную. Здесь я отмечу только важнейшие признаки морфологических изменений в яичниках мышей, которые служат для оценки реакции и силы этой реакции на гормон:

HVR I — полное созревание фолликулов, овуляция и эффект гечки;

HVR 2 — массовые кровоизлияния в увеличенных фолликулах, отмечаемые как кровяные точечные пункты;

HVR 3 — лутеинизирование фолликулов и образование Corpora lutea atretica.

Очень подробно вопрос о биологических пробах разработан также в лаборатории Янсена (Janssen), показавшего, что гонадотропный гормон показывает действие даже при даче его per os, однако тогда нужны 100-кратные дозы.

Гонадотропный гормон HVL находящийся в самой железе повидимому, не идентичен продукту, выводимому с мочой беременных. Он был найден также в крови, плаценте, колоструме (секрете молочных желез при беременности), в плодных водах, слюне, коже и очень редко — у детей (Нейман).

Цондек, исходя из того факта, что не только моча беременных, но и имплантация гипофиза или его экстракты дают созревание фолликулов и лутеинизирование их, т. е. ведут к образованию желтого тела (см. первую главу), выдвинул теорию двух проланов. Он различает в гонадотропном гормоне HVL два гормона «пролан А», вызывающий только созревание фолликулов, и «пролан В», вызывающий лутеинизирование (см. схему Шеллера). К этому взгляду присоединилось очень много авторов (Мандельштамм, Крауль, Дингманс, Гаупштейн и др.). Некоторые исследователи принимают еще различные виды «пролана А».

В противовес этим воззрениям Лакер и его школа, а также Шеллер и др. выдвигают совершенно справедливое возражение, что еще никому не удалось химическим путем доказать наличие не только различных проланов А, но и вообще фракции А и В гонадотропного гормона. Кроме того, Лакер во всех случаях смог найти при применении больших доз гонадотропного гормона наряду с созреванием фолликулов также и их лутеинизирование вплоть до образования желтого тела. Необходимо учесть простой факт, что образование желтого тела возможно вообще только, если имеется уже зрелый фолликул, т. е. если налицо действие так называемого пролана А. Поэтому недостаточно понятно действие пролана В, которому приписывается только лутеинизирующий эффект. В соответствии с воззрениями Лакера, Шеллера и др. мне кажется наиболее вероятным, что дело идет только об одном гонадотропном гормоне, малые дозы которого ограничиваются эффектом созревания фолликулов, а большие непрерывно действующие дозы ведут к образованию желтого тела, следовательно к лутеинизации таких фолликулов.

Взаимное действие гонадотропного гормона и фолликулостерона подвергалось многочисленным исследованиям, и в общем мож-

но считать безусловно установленным, что физиологическая связь их вполне определяется выражением Цондека, что гормон HVL является «мотором эндокринной функции яичников», а также, повидимому, и яичек у мужчин. В этом смысле он является неспецифическим гормоном пола, основная роль которого сводится к поддержанию и регуляции продукции половыми железами обоих полов специфических сексуальных гормонов — стеронов.

У мужчин гормон HVL дает аналогичный эффект — он вызывает раннее созревание яичек, увеличение семенных пузырьков и общий сексуальный подъем, определяемый повышенной продукцией тестикулостерона. Бург (Bourg), Фонсэн (Foncin) доказали ясное увеличение клеток Лейдига (ZZ-клетки) в ткани яичка крыс при длительной даче очень больших доз гонадотропного гормона.

В заключение нельзя обойти работ, которые указывают на определенные соотношения, имеющиеся, повидимому, между гонадотропным гормоном и злокачественными опухолями. Прежде всего этот гормон постоянно встречается в моче раковых больных (Цондек, Борст, Эванс, Фельс и др.). Далее, было установлено, что введение гормона HVL задерживает в известной степени рост экспериментально вызванных опухолей и обычного рака у людей. Но по Гофбауэру (Hofbauer) чрезмерная продукция гормона HVL служит моментом, предрасполагающим к развитию злокачественных опухолей матки. Очевидно, что с механизмом химического образования стеронов тесно связан механизм образования и развития злокачественных опухолей. Гонадотропный гормон, входящий как один из факторов первого из приведенных механизмов, одновременно может влиять на второй механизм. Весь вопрос упирается в решение проблемы химизма образования гормонов пола в организме, что мною уже неоднократно подчеркивалось. Разрешение ее повлечет одновременно раскрытие проблемы образования и развития в организме злокачественного роста (опухолей) и роли гормона HVL во всех этих процессах. Пока остается только распределить и некоторым образом систематизировать добытый фактический материал.

Одним из спорных и, по моему мнению, совершенно еще неясных вопросов в физиологии и биохимии гонадотропного гормона HVL является вопрос о его природе и месте образования.

Не решен вопрос о тех морфологических элементах передней доли гипофиза, которые продуцируют этот гормон. Ряд исследователей во главе с Цондеком приписывает это так называемым «базофильным клеткам» гипофиза, в то время как другая часть — эозинофильным клеткам (Краус и др.).

Совершенно темен вопрос, идентичен ли гонадотропный гормон, образующийся в передней доле гипофиза, продукту, найденному и отождествленному с ним в моче беременных. Многие считают, что это — различные вещества (Фельс, Робсон, Леонард, Манерт, Рейсс, Дингманс, Вадэ и др.). Опыты Эванса, Рейхерта и др. показали, что при удалении гипофиза остановка в развитии полового аппарата не может быть изменена инъекциями препарата, выделенного из мочи беременных женщин, и, наоборот, восстанавливается, если этот препарат комбинируется с экстрактом из удаленного гипофиза. Они предполагают наличие особого «активатора пролана» в гипофизе. Ашгейм и др., однако, полагают, что препарат в моче беременных идентичен гормону передней доли гипофиза. Вопрос в общем еще не решен и все трудности его решения заключаются по существу в том, что до сих пор ни один из этих препаратов не выделен в химически чистом виде. Кроме того, чисто физиологическое затруднение состоит в отсутствии пролана в моче ряда животных и, следовательно, в не абсолютной однородности условий опыта.

Наконец еще один спорный вопрос, сущность которого сводится к тому, каким путем гормон попадает в мочу из гипофиза. Некоторые исследователи доходят до утверждения, что пролан мочи вообще не образуется в гипофизе, а вырабатывается в плаценте. Эти утверждения основываются на том факте, что несмотря на огромные количества гонадотропного гормона, находимые в моче женщин, особенно на высоте беременности, гипофиз у беременных женщин показывает полное отсутствие этого гормона. Во всяком случае об абсурдности утверждения, что пролан мочи образуется в плаценте, говорит хотя бы тот факт, что он находим и в моче мужчин, у которых уже во всяком случае плацента может быть вполне надежно исключена! Нахождение пролана в плаценте легко объяснимо, если вспомнить, что гормон циркулирует в крови матери.

Резюмируя изложенный материал, нужно установить тот факт, что в ряде общих вопросов, касающихся природы, происхождения и образования гонадотропного гормона, чрезвычайно много еще неясных мест и здесь необходимы дальнейшие многочисленные исследования, которые могли бы позволить составить вполне ясную, надежную и безупречно обоснованную картину эндокринной функции передней доли гипофиза и физиологических свойств гонадотропного гормона. Работы Ашгейма и Цондека, кроме лишь выработанной ими прекрасной биологической пробы, могущей с успехом служить химикам для их работ по идентифицированию гормона HVL, носят местами характер чисто эмпирических исследований с весьма подчеркнутым утилитарным направлением. Что же касается их теоретических концепций, то они, как было видно, за недостатком солидной экспериментальной базы и прежде всего за отсутствием хими-

ческого фундамента превращаются в научные спекуляции, едва ли способствующие освещению этой сложной проблемы (например, вопрос о «проланах А и В» и т. д.). С теоретическими обобщениями в отношении «гонадотропного гормона» следует пока подождать, предоставив сначала химикам сказать свое слово выделением и характеристикой этого вещества.

2. Химическая характеристика гормонов пола передней доли гипофиза

В отношении химии гонадотропного гормона дело обстоит, пожалуй, еще менее успешно, чем это имело место для его биологической характеристики. До сих пор не выделено достоверных кристаллизатов не только гормона HVL из гипофиза, но и пролана из мочи беременных. Данные Лейва (Lejwa), который сообщал о будто бы выделенном им кристаллическом препарате из мочи беременных, активном в дозе γ на 1 МЕ, нуждаются еще в самой настоятельной проверке, тем более что они не подтвердились у других авторов. Вся химия гормона сводится в настоящее время к некоторой характеристике химических свойств и поведения гормона, а затем к обычным для гормонов вытяжкам, или препаратам, химически неоднородным и совершенно неопределенного состава. Дело не дошло даже до возможности установить брутто-формулу по эмпирическому составу.

Методы выделения пролана описаны многочисленными авторами, преимущественно в патентных заявках (Лакер, Бидль, Рейсс—Горовиц, Дэви и др.). Сводятся эти способы, с одной стороны, к концентрации активного принципа методом фракционированного осаждения алкоголем, с другой стороны — к адсорпционным способам с последующей элюцией пиридином. Подробнее излагаются эти способы в работах Дикенса, Маршалла, Шмидта и Деранковой, ван Дейка и др. В общем наибольшее накопление и выделение активных концентратов гормона HVL удается способами адсорпционными. Чистый продукт пролана удалось, повидимому, получить Цондеку и Шейблеру, сухой порошок этого продукта показал по этим авторам активность

$$1\ RE = 1\gamma.$$

К сожалению, сколько-нибудь серьезной или подробной химической характеристики такого препарата произведено не было.

Поэтому сведения о химической природе гормона чрезвычайно скудны. Интересно наблюдение Бруа, что на оба пола действуют только такие экстракты пролана, которые были приготовлены при нейтральной очень или очень слабо кислой реак-

ции среды. Препараты же, приготовленные в щелочной среде, оказывали влияние только на женщин. По данным Лакера пролан не содержит в себе гормона роста, выделяемого передней долей гипофиза.

Все эти исследования имели исходным материалом мочу беременных женщин. Экстракты из передней доли гипофиза в химическом отношении не достигли даже тех степеней очистки, которые были выше изложены для пролана. Как видно из приведенных результатов вопрос о выделении естественного продукта находится еще в самой первоначальной стадии своей разработки, особенно если вспомнить все изложенное для стеронов. Для химика здесь, следовательно, предстоит еще большая и кропотливая работа.

Химические свойства препаратов, содержащих пролан, выделенный из мочи беременных, указывают на то, что активный принцип, представляющий физиологически действующий гормон, является телом, растворяющимся в воде, термолабильным, не переносящим прогрева, весьма чувствительным к обработке кислотами и щелочами, осаждающимся в нейтральной среде тяжелыми металлами, алкоголем, ацетоном и легко адсорбируемым положительно заряженными адсорбентами, что говорит, следовательно, о кислом характере этого вещества.

Протеолитические ферменты разрушают активное начало. С достоверностью доказаны неотделимые примеси белкового характера (Гойсоу, Жюэно и др.).

Описанная мало утешительная картина позволяет все же сделать один важный вывод: гонадотропный гормон HVL, или действующий препарат пролана, добываемый из мочи беременных, по своей химической природе совершенно отличен от специфических гормонов пола и поэтому не может быть причислен к стеронам. Можно без всяких колебаний исключить липоидную природу пролана и отнести его поэтому ни к стеронам, ни к стеринам нельзя. Повидимому, он является комплексным образованием, телом белковой природы или близко стоящим к пептидам. Поэтому более подробный разбор его здесь, не говоря уже о скудости каких-либо точных химических данных о нем, не представляется целесообразным. Необходимы дальнейшие систематические чисто химические исследования, которые, естественно, должны исходить из тех сведений о химической природе пролана, которые могут считаться вполне достоверными.

Заканчивая на этом рассмотрение неспецифических гормонов пола, возможно по химическому признаку строго отграничить проланы от стеронов, являющихся специфическими сексуальными гормонами, причем последнее свойство их — специфичность — определяется, очевидно, как раз их липоидной природой, их химическим родством с животными стеринами. На

прочих гуморальных факторах, которые многие пытаются отнести к типу факторов пола («Hebin» — Домма и ван-Дейка, «Stopphormon» — Коэтера, «Prolactin» — Риддля, «Plazentin».) и которые представляют смеси совершенно неопределенного состава, в большинстве случаев чрезвычайно загрязненные экстракты из соков и тканей организма, я не считаю вообще возможным останавливаться. В отношении их царит полная эмпирика, о химическом, сколько-нибудь удовлетворительном подходе к их изучению говорить еще не приходится. Интересны последние работы Мак-Куллага (Mac Cullagh), сообщенные. XV Международному конгрессу физиологов по поводу выделенного им препарата «ингибина», который он считает новым гормоном.. Это вещество по Куллагу специфически действует на гипофиз, препятствуя избыточному выделению гормонов последнего, особенно у кастратов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПУТИ ЛЕЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ СЕКСУАЛЬНЫМИ ГОРМОНАМИ (СТЕРОНАМИ)

Предпосылки широкого применения с лечебными целями в клинике, гормонов женских и мужских половых желез явились с того момента, когда эти дорогие, полученные вначале в минимальных количествах вещества стали вполне доступными в результате их синтеза. При условии получения чистых кристаллизатов фолликулостерона заводским или, по меньшей мере, полузаводским путем из мочи беременных клиника будет располагать полным комплектом безупречных химически чистых стандартизованных препаратов сексуальных гормонов обоих полов. Однако, давая в руки врачу-клиницисту эти могучие средства воздействия на определенные функции организма, химик должен быть по меньшей мере вознагражден в том смысле, что труды его действительно будут использованы умелыми руками и прежде всего с пользой для человека. Кроме того, химик в отношении синтетических продуктов является хозяином положения, а потому в его силах удовлетворить специальные требования клиники: так например он в состоянии дать клиницисту такие препараты стеронов, действие которых будет протрагированным, затянутым, что представляет уже те удобства, что освобождает человека от повторных инъекций на длительное время; он может также предоставить такие дериваты, которые во много раз активнее чистого стерона, и, наконец, не исключена возможность различных комбинаций специального хемотерапевтического назначения в зависимости от нужд клиники. Очевидно, что тес-

ный контакт клинициста, его хотя бы элементарное знакомство с химией сексуальных гормонов, при внимательном научном подходе к интерпретации результатов лечения стеронами позволит практическую сторону проблемы значительно расширить и упростить.

Все изложенное, однако, требует от клиники известного подхода к вопросам применения стеронов для терапевтических целей вообще. Нельзя ни на одну минуту забывать, что механизм действия, механизм развязывания определенного биологического эффекта стеронами окончательно и в деталях еще не известен, но в то же время есть основания думать, что он может стоять в тесном контакте с механизмом возникновения тяжелого патологического состояния организма—с процессом неорганизованного роста. В мои цели вовсе не входит преувеличивать свойства стеронов, но мне кажется, что именно недооценка последних в физиологическом и чисто клиническом аспекте могла бы оказаться впоследствии роковой. Поэтому, особенно учитывая иногда чрезмерное увлечение в практической медицине чистой эмпирикой, связанной с быстрым эффектом некоторых совсем почти не изученных (по сравнению со стеронами) веществ типа лизатов, препаратов мочи беременных и пр., мне кажется своевременным предостеречь серьезных клиницистов от подобного увлечения такими несравнимыми как по эффекту, так прежде всего по своей всесторонней научной изученности и обоснованности препаратами стеронов.

Все имеющие или могущие иметь место опасения были достаточно подробно изложены в главах, посвященных химии и биохимии стеронов. Я остановлюсь поэтому на тех условиях, которые должны быть соблюдены и только на которых, мне кажется, является допустимой и возможной серьезная научно обоснованная терапия гормонами пола.

1. Качество препаратов. Совершенно естественно, что подлинный эффект без необходимости учета возможного влияния на организм (может быть вредного) примесей к гормонам. можно получить только при применении чистых кристаллизатов, безразлично синтетических или естественных препаратов стеронов. Основные условия, которые должны быть предъявлены клиникой к таким кристаллическим препаратам, это их стандартизация на животных в принятых и подробно изложенных выше «единицах» соответствующей биологической пробы. Этим может быть положено основание для рациональной терапии, так как такие препараты позволяют применить вполне точную дозировку.

2. Дозировка стеронов есть одно из наиболее важных условий лечения этими веществами. Слишком малые дозы не дают эффекта и, наоборот, слишком высокие дозы могут

быть чреваты последствиями. На основании безупречных исследований на людях (Кауфман, Бушбек и др.) можно принять в качестве «физиологической дозы» для женщин, определяющей ее 4-недельный половой цикл:

для фолликулостерона (кристаллического)—1.000.000 IE, что соответствует 100—150 мг кристаллического препарата;

для лутеостерона до 50 КЕ, что соответствует примерно 25 мг кристаллического синтетического препарата.

Для мужчин «физиологическая доза» не установлена, вопрос нуждается в разработке, так как впервые доступные количества тестикулостерона были получены в конце 1934 г. Некоторые данные говорят за дозы от 200 мг, что составляет около 800 НЕ.

3. Постоянный биохимический контроль больных, подвергающихся лечению стеронами. Имеется ряд способов, особенно хорошо разработанных для женщин, которые позволяют количественно определить содержание стеронов в крови, моче и кале у больных (Зибке, Зигерт, Вагнер и др.). Этим путем создается не только контроль результатов лечения, но одновременно и базис показаний и противопоказаний для терапии сексуальными гормонами в клинике.

Все приведенные условия являются вполне выполнимыми и позволяют, как мне кажется, использовать в клинике достижения химии и биохимии стеронов с наибольшим успехом и одновременно с достаточной осмотрительностью и осторожностью достойной серьезного клинического врача. Постановка проблемы «гормонотерапии» может получить широкое и заслуженное признание клиники, если на примере стеронов эта проблема с самого же начала будет поставлена солидно, будет научно достаточно обоснована и сразу же комплексно связана, или по меньшей мере будет находиться в тесном контакте с физиологическими и биохимическими лабораториями, цель которых будет сводиться к дополнению клиники.

ПРИМЕНЕНИЕ ЖЕНСКИХ СТЕРОНОВ В КЛИНИКЕ

Основная область применения женских сексуальных гормонов — гинекология. Здесь, однако, стероны играют роль не только терапевтических, но так же и диагностических средств, для установления эндокринных расстройств у женщин. Я не могу останавливаться на бесчисленных работах врачей специалистов-гинекологов, это и не входит в задачи настоящего краткого приложения. Можно отметить ряд обобщающих этот вопрос работ Лакера—Вагнера—Вельдена, Фельса, Шредера, Ходецкого и других. Здесь я хотел только отметить те общие принципы применения кристаллических стеронов в клинике, которые вытекают из основного их физиологического эффекта.

Зак 1985

Фолликулостерон ведет к пролиферации матки, усилению ее тонуса и росту генитальной системы у женщины, а также к развитию волос, молочных желез и общему половому подъему. Поэтому основные показания для применения этого гормона в клинике сводятся к условиям, когда желательно добиться эффекта, соответствующего приведенному в общих чертах физиологическому действию этого стерона. Сюда относятся в первую очередь все спутники климактерия у женщин, в особенности состояние нервной системы, все виды инфантильности женщин, симптомы, связанные с врожденной недоразвитостью отдельных половых признаков, отсутствие или пониженное половое влечение, в особенности все виды недостаточности libido, и, наконец, симптомы, сопровождающие кастрацию женщин.

Лутеостерон имеет в сущности основной функцией поддержку беременности и поэтому практическое его значение в клинике этим и определяется. Кроме того, в комбинации с фолликулостероном он является мощным регулятором большинства менструальных расстройств женщины. Дача лутеостерона в течение нормального цикла женщины приводит к искусственно вызываемой оттяжке месячных очищений, а при соответствующей дозировке до задержки на вполне определенный срок времени. Таким образом, основные показания в клинике для применения лутеостерона в первую очередь сводятся ко всем тем случаям, когда по функциональным причинам не имеет места забеременение женщин или происходят преждевременные выкидыши. В этих случаях лутеостерон показывает по наблюдениям многих клиницистов (Кауфман, Вагнер, Штеммлер и др.) быстрый и надежный эффект, позволяя во всех случаях довести беременность до благополучного конца.

Другой эффект лутеостерона, которому многие больные были обязаны спасением жизни, сводится к быстрому и полному прекращению тяжелых, не поддававшихся хирургическому вмешательству маточных кровотечений. В дозах не ниже 50 КЕ лутеостерон вызывает их остановку. Естественно, что здесь требуется дача только одного лутеостерона, без примесей фолликулостерона, вызывающего обратный эффект. Наконец, все виды дисменоррей поддаются активному лечению лутеостероном.

Комбинированное лечение обоими стеронами требует от врача хорошего знания физиологического действия и химии обоих веществ. Классическими в этом отношении должны считаться работы Кауфмана, который разработал и дозировку и схемы комбинированного лечения. В качестве основной схемы, носящей клинико-физиологический характер, нужно считать его опыт комбинированного лечения кастрированных женщин. Систематической дачей определенных доз фолликулостерона, а затем лутеостерона,

он смог у вполне кастрированных женщин получить физиологическую пролиферацию слизистой матки, затем — превращение ее в секреторную фазу и все признаки «мнимой беременности», состоявшие в набухании грудных желез, резком повышении полового чувства, повышении тургора наружных половых органов и т. д. Прекращение дальнейшей дачи лутеостерона, как это соответствует физиологической схеме Шеллера (см. главу первую), привело немедленно у таких кастрированных женщин к истинной менструации (микроскопическое исследование выделений доказало отторженную слизистую матки с кровью, как в нормальном половом цикле женщины). Эта работа, помимо огромного клинического значения, является большим вкладом в физиологию стеронов, служа обоснованием для подлинно научного применения этих соединений в клинике женских заболеваний. Я привожу на нижеследующей таблице, взятой из работ Кауфмана, схему дозировки и введения стеронов в описанном случае.

Дни недели (шестидневка требует соотв. пересчета)						
Воскресенье	Понедельник	Вторник	Среда	Четверг	Пятница	Суббота
	1 20 мг.Ф.С.	2	3	4 20 мг.Ф.С.	5	6
7	8 20 мг.Ф.С.	9	10	11 20 мг.Ф.С.	12	13
14	15 20 мг.Ф.С.	16	17	18	19 5 мг. Л.С.	20 5 мг. Л. С.
21 10 мг.Л.С.	22 10 мг.Л.С.	23 10 мг.Л.С.	24	25 М.	26 М.	27 М.

Обозначения:

Ф.С. — дача фолликулостерона кристалл. по 20 мг.

Л.С. — дача лутеостерона синт. кристалл. по 10 мг.

М. — менструации (истинные менструальные кровотечения).

В заключение следует отметить также исключительный успех лечения инфантилизма и пониженного полового чувства женщин комбинированным применением обоих гормонов. Особенно демонстративна картина наружных половых органов у таких субъектов: дача стеронов приводит не только к резкому усилению тургора, но к набуханию и картине, обычной для гениталий при беременности. Рисунок 93 наглядно иллюстрирует эти отношения: показаны наружные половые части инфантильной женщины после дачи фолликулярного гормона с присоединенной позже дачей лутеостерона. Подобная картина наблюдается и у обезьян по опытам Тавастшерна

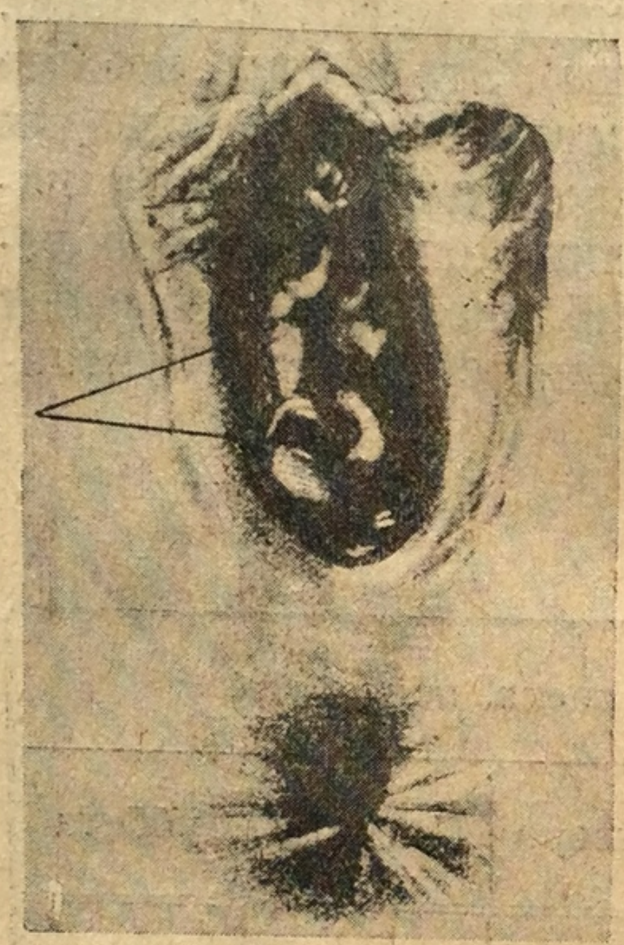


Рис. 93. Набухание наружных половых частей инфантильной женщины при лечении синтетическим лутеостероном по Кауфману. (Чертой показана резкая набухлость остатков девственной плевы.)

Заканчивая этим разбор показаний к применению женских стеронов в клинике, я укажу еще, что судя по литературе, комбинированное применение обоих стеронов имело успех при лечении выпадения волос [Пулаи (Pulay) Клэр (Klar) и др.], при лечении различных стоящих в причинной связи с половой функцией женщин заболеваний суставов, при ретините и даже гемофилии. Особенно ободряющие результаты по данным исследователей, были получены также в клинике кожных заболеваний у женщин (Курцрок и Розенталь, Урбах и др.), при лечении, акнэ, экземы, почесухи и т. д. В нервной клинике совершенно очевиден успех, который был достигнут при лечении различных форм психастении и нейрастении, имевшими своей причинной основой половые расстройства и дисфункции.

Какой бы незначительной деталью это ни показалось, все же я считаю нужным здесь привести указание для клиницистов, что препараты стеронов должны по возможности изготовляться ex tempore перед самым введением больным (обычно готовят растворы в сезамовом или оливковом масле для подкожных инъекций). Учитывая легкую окисляемость их и разлагаемость, некоторые американские исследователи предлагают специальную аппаратуру для клинического обихода, которая с химической точки зрения весьма целесообразна и поэтому также может быть всячески рекомендована. На рис. 94 показана градуированная мензурка, позволяющая отмеривать точные количества масляного раствора стерона, нужные для введения больному.

Пришлифованная к кранику пробирка позволяет всю процедуру вести в отсутствии соприкосновения с воздухом. Вполне понятно, что исходные кристаллические препараты стеронов должны храниться тщательно закрытыми в сухих сосудах с притертыми пробками, защищенными от действия света. В таких условиях их неизменяемость может быть гарантирована до года.

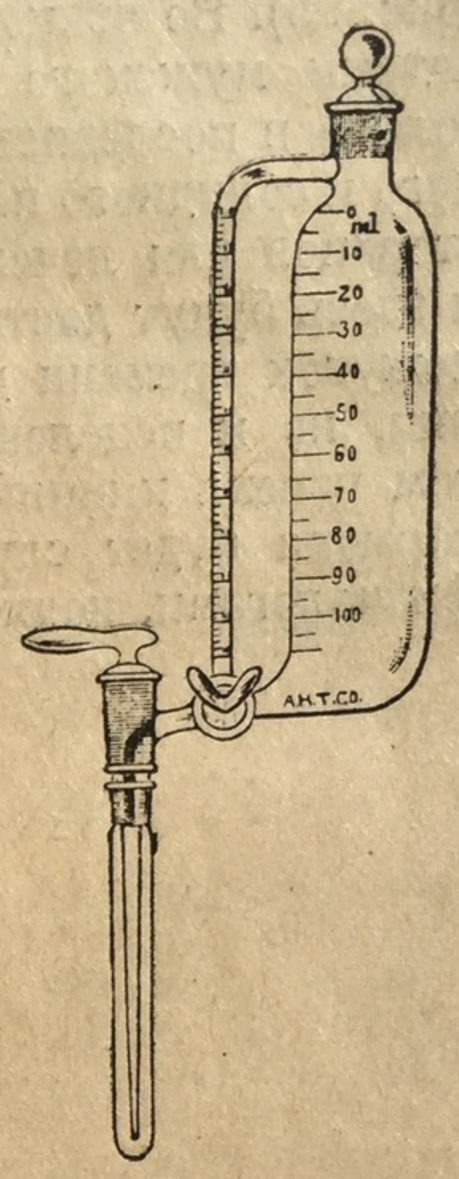


Рис. 94. Модель капельницы для гормонов пола.

ПРИМЕНЕНИЕ МУЖСКИХ СТЕРОНОВ В КЛИНИКЕ

Клиника лечения мужскими гормонами мужских половых расстройств до сих пор еще не изучена, что объясняется, как указывалось, тем обстоятельством, что нужные для этой цели количества чистого гормона стали доступными совсем недавно, едва полгода назад, когда был осуществлен синтез тестикулостерона. Принципиально здесь очевидны следующие показания для применения тестикулостерона: заместительная терапия в тех сравнительно редких случаях, когда имеется полная потеря обоих яичек, затем в случаях половой импотенции и общего угасания полового чувства мужчин. Подробнее этим вопросом занимался Гох (Hoche), также Коччи (Cocchi), Велинг (Wöhling) и др. Как указывалось, некоторые авторы нашли, что при функциональной, связанной с умственными перенапряжениями половой импотенции, дозы около 800 НЕ достаточно для длительного восстановления тонуса и половой функции; отсюда они и заключают, что эта доза близка к физиологической. Послед-

Рис. 95. Микроскопическая картина резкого разрастания семенных клеток яичка морской свинки, получавшей синтетический тестикулостерон (200 γ ежедневно в течение 4 дней).

нее, однако, на мой взгляд, лишено всяких оснований хотя эти дозы ведут к резкому разрастанию семенных клеток (рис. 95). Во всяком случае, разработка клиники лечения препаратами мужского сексуального гормона, ставшая возможной только в последнее время, требует такого же научно обоснованного и солидного подхода, какой уже имеет место при применении стеронов для лечения женских болезней. Надо надеяться, что и здесь будут достигнуты те же успехи, какие за короткий промежуток времени дали возможность не только успешного лечения, но и исцеления многих страдалиц женского пола. Залогом успеха клинического изучения тестикулярного сексуального гормона будет служить серьезный, в комплексе с химиками и физиологами, подход к такой работе.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛИТЕРАТУРЫ

Aberle, J. Nutrition, 6, 1 (1933)

Adler-Bölting, Monat. Geburtsh.,82, 19, (1929); Arch. Gynäk, 95, 349, (1912);

Adam-Danielli-Dodds-Marrian-Rosenheim-King, Nature, 11, 132, 205 (1933);

Adrian, J. of Physiol., 72, 101 (1931); 66, 445 (1928);

Allanson, J. exper. Biol., 8, 389 (1931);

Allen E. и сотрудники, J. Amer. med. Assoc., 81, 819 (1923); 85, 399 (1925); 97, 1189 (1931); Amer. J. Anat., 34, 133 (1924); 42, 467 (1928); Amer. J. of Physiol., 68, 711 (1924); 69, 577 (1924); 85, 471 (1928); 92, 127 (1930); J. biolog. Chem., 61, 711 (1924); 88, 340 (1929); 98, 591 (1932); Biochem. J., 22, 1526 (1928); Hoppe-Seyl. Z., 188, 1 (1930); Physiol. Rev., 7, 600 (1927); Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 21, 500 (1924); 22, 303 (1925); 24, 608 (1927); 29, 932 (1932); Amer. J. Obstetr., 29, 83 (1935);

Allen E., Sex. and internal secretion, (1932) Ed. Saunders;

Allen W., Amer. J. Physiol., 92, 174, 612 (1930); 100, 650 (1932); 106, 55 (1933); 109, 111, (1935); Anat. Rev., 48, 65 (1931); J. biol. Chem., 98, 591 (1932); Chem. Ztbl., 1933, 11, 3863;

Amati. Endocrinologia, 3, 317 (1928)

Amour-Goustavson, J. Pharmac., 40, 473, 485 (1930); 49, 146 (1933);

Amson, Endocrinologie, 9, 241 (1931);

Ancel, Soc. Biol., 83, 1642 (1920); Journ. physiol. pathol., 12, 1 (1910);

Andersen-Kennedy, J. Physiolog., 79, 1, (1933);

Arvay, Biochem. Z., 237, 199 (1931); Endokrinol., 13, 9 (1933);

Aschheim-Hohlweg, Dtsch. med. Woch., 1933, 12.

Aron, Soc. Biol., 102, 682 (1929); 103, 105, 151, 702; 104, 96; 105, 585, 974, (1930); 106, 609, 1044; 107, 64; 108, 784 (1931); 109, 218, 923; 110, 716 (1932); 113, 443; 114, 20 (1933) Rev. franç. Endocrin., 8, 472 (1930);

Athias, J. Physiol. et Pathol., 18, 731 (1920); Arch. int. Pharmac., 25, 423 (1921); Soc. Biol., 107, 1177 (1931);

Asher-Bertschi, Biol. Z., 106, 37 (1920);

Aude, Rev. franç. Endocrin., 5, 81 (1927);

Bacq, Ann. de Physiol., 5, 659 (1929); Amer. J. Physiol., 96, 321 (1931); 99, 444 (1933); 102, 210 (1935);

Basch, цит. по Данилевскому;

Bauer, Arch. exp. Path., 163, 602 (1931);

Baumann-Steenbock, Science, 417 (1932);

Benazzi, Soc. Biol. Sper., 6, 842 (1931);

Bencan, Soc. Biol., 97, 229, 427, (1927);

Benoit, Soc. Biol., 97, 275, 279, 784 (1927); 104, 1332 (1930); 108, 788, 791 (1931);

Benda, Zbl. Pathol., 40, 185 (1927);

Berblinger, Kl. Woch., 1932, 1329; 1928, 1673; Z. Konstit. Lehre, 12, 193 (1926);

Белов и Горн, цит. по Данилевскому;
Bergamini, Rivist. Ital. Ginecol., 14, 255 (1932);
Bernal, Chem. a. Ind., 51, 259 (1932); Nature, 20, 11; 14 (1932);
Berthold, Arch. Anat. u. Physiol., 2, 42 (1849);
Biedl, Arch. Gynäkol., 132, 167, (1927);
Binet-Gley, Soc. Biol., 112, 1634 (1933);
Bisceglie, Boll. Soc. Chir. Med., 28, 41 (1927); Rivist. Path. sperim., 4, 119 (1929);
Blacher, Zbl. Path., 37, 608 (1933);
Borst, Münch. med. Woch., 1930, 473, 1117, 1536; 1931, 19, 572; 1932, 1392; 629; Zbl. Gynäk., 1932, 1618; 1933, 313;
Bourg, Soc. Biol., 104, 107, 1046 (1930); 111, 235, 148 (1932); 114, 115 (1935); 105, 466 (1930);
Bouin-Ancel, Soc. Biol., 56, 84, 97 (1904); 88, 758; 89, 175 (1923); Endokrinolog., 9, 1 (1931); C. rend. Acad. Sc., 196, 1448 (1933);
Brouha и сотр., Soc. Biol., 113, 406 (1933); 112, 214; 113, 83 (1933); 116, 114 (1935); 95, 540 (1926); 96, 96 (1927); 97, 459; (1927) 41, (1928); 101, 366 (1929); 109, 548 (1932); 110, 1023 (1932);
Brown-Séquard, Arch. anat. Physiol., 21, 651, 739; 22, 201, 443, 456, 641 (1889); Soc. Biol., 415, 430 (1889);
Buckner, Amer. J. Physiol., 102, 271 (1932); 103, 647 (1933);
Bugbee-Simond, J. Amer. Pharmac. Assoc., 17, 962 (1928);
Bühler, Z. exper. Med., 86, 638, 650 (1933);
Büngeler, Zbl. f. Pathol., 55, 372 (1932);
Burrows-Johhston, J. exper. Med., 42, 125 (1925);
Buschke, Münch. med. Woch., 1927, 969; Kl. Woch., 1932;
Buschbek, цит. по Kaufmann;
Busquet, Soc. Biol., 99, 1855 (1928); 109, 627 (1932);
Butenandt, Untersuch. über d. weibl. Sexualhormone. Berlin (1931); Naturwiss., 17, 879 (1929); Dtsch. med. Woch., 1929, 2171; Nature, 1932, 238; Hoppe-Seyl. Z., 188, 1; 191, 127, 140 (1930); 199, 243 (1931); 208, 129 (1932); 216, 49 (1933); 223, 147 (1934); 227, 84 (1934); Wien. kl. Woch., 30, 79, 47, 934, (1934); Verh. Gesell. inner. Med. Wiesbaden; 11.IV.1934; Z. angew. Chem., 42, 725 (1934); 46, 639 (1934); Berichte d. Deut. Chem. Gesell. (Ber.), 63, 659 (1930); 64, 2529 (1931); 67, 1440, 1901, 2092, 2085, 1611, 1855, 1893, 2088 (1934);
Cahane, Soc. Biol., 104, 447 (1930);
Campbell-Collip. Brit. med. J., 1930, p. 1081;
Cannon, Brit. med. J., 1930, p. 201;
Mac-Cartney, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 26, 686, (1929); Amer. J. Physiol., 63, 207 (1923);
Castillo-Del, Soc. Biol., 102, 457 (1929); 105, 310 (1930); 109, 342 (1931);
Caridroit, Bull. biol. France et Belge: 60, 135 (1926); Soc. Biol., 99, 1311 (1928); 107, 1250 (1931);
Champy, Soc. Biol., 94, 311 (1926); 107, 605 (1931); 112, 865 (1933); C. R. Acad. Sc., 185, 302 (1927);
Chirife, Arch. de Fisiol., 31, 250 (1932);
Clendon Mc., Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 26, 265, 782 (1929); Amer. J. Physiol., 97, 82 (1931); 90, 448 (1929);
Cocchi, Endokrinologie, 11, 29 (1932);
Courrier, Soc. Biol., 107, 1367, (1931); Arch. de Biol., 34, 369 (1924); C. R. Acad. Sc., 182, 1492 (1926); Soc. Biol., 94, 280 (1926); 99, 224-265 (1928); 100, 1103 (1929); 107, 1547, (1931); 109, 877 (1932); 112, 940 (1933); 104-ii80 (1930); 113, 607 (1933);
Clauberg, Zbl. Gynäk., 1930, 7, 1154, 2757; 1931, 459; 1932, 2460; 1933, 1461; Arch. Gynäkol., 152, 61 (1932); Klin. Woch., 1930, 2004; 1931, 1949; 1932, 373.

Collip, Transact. Roy. Soc. Canada, 23, 165 (1929); Amer. J. Physiol., 97, 513, (1931); Endokrinol., 15, 315 (1931); J. biol. Chem., 97, 17, (1932); Proc. Roy. Soc., 117 (1935);
Cook и сотр. Naturwiss., 21, 222 (1933); Nature, 1933, 56, 205; J. chem. Ind., 52, 449, 287 (1933); J. Chem. Soc. London, 395, 359, 1011, 1098 (1933); Proceed. Roy. Soc., 114, 272 (1934); 117, 444 (1935);
Corner, Amer. J. Physiol., 86, 74 (1928); 88, 326, 340 (1929); 92, 612 (1930); Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 27, 403 (1930); 29, 598 (1932).
Cotte-Pallot, Soc. Biol., 99, 69 (1928);
Coward, J. Physiology, 63, 270 (1927); 69, 349 (1930);
Cullagh Mc, J. biol. Chem., 97, 48 (1932); Science, 1932, 19; Summaries of communications of the XV Intern. Physiol. Congress (1935);
Curoy.-Quivy, Soc. Biol., 107, 580 (1931);
Curtis, J. biol., Chem., 100, 33 (1933);
Daniel, Soc. Biol., 106, 997, 1000 (1931); Z. exper. Med., 44, 670 (1925).
David, J. Pharmac., 43, 1 (1931);
Deanesley, J. Physiology, 72, 62 (1931); 78, 80, 442 (1933);
Deuticke, Arch. f. exper. Pathol., 145, 359 (1929);
Davy-Sevringhaus, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 30, 1422 (1933);
Desclin, Soc. Biol., 110, 601, 111, 1015 (1932); 113, 526 (1933);
Dickens, Biochem. J., 24, 1057 (1930); 19, 853 (1925); 22, 1526 (1928); Lancet, 1927, 1915;
Dingemanse, Pflügers Arch., 226, 543 (1931); Biochem. Z., 231, 1; 239, 209; 240, 247 (1931); Nederl. Tijdskr. Geneeskunde, 1929, 764; Proc. Roy. Acad. Amsterd., 36, 242 (1933); 33, 1206 (1930); Arch. néerl. Physiol., 14, 271 (1929); Acta néerl. Physiol., 2, 12 (1932),;
Dixon, J. Physiology, 26, 244 (1900);
Dogliotti, Ann. Obstetr., 55, 367 (1933);
Dohrn, Klin. Woch., 1927, 359 Med. Kl., 1926, 1417;
Doisy и сотр., Amer. J. Physiol., 90, 329 (1924); Endocrinol., 10 273 (1926); J. amer. med. Assoc., 94, 341, 1523 (1930); Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 27, 417 (1930); 28, 88, 216 (1931); J. biol.Chem., 91, 641 (1931); 97, 57 (1932); 99, 327 (1933); 100, 57, 101, 753, 104, 817 (1934);
Dodds, Biochem. J., 24, 1031 (1930); J. Chem. Ind., 1933, 287; Lancet, 218, 1390 (1930);
Domm, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 22, 28 (1924); 28, 314 (1930); J. exper. Zool., 48, 31 (1927);
Druckrey, Endocrinologie, 12, 1 (1933);
Duddley, Biochem. J., 18, 1253 (1924); 19, 1032 (1925); 20, 1082 (1926); 21, 17 (1927); 23, 172 (1931);
Durrant, Amer. J. Physiol., 76, 234 (1926); 98, 153 (1931);
van-Dyke, J. Pharmac., 37, 379 (1929); 40, 413, (1930); 45, 277 (1932); 47, 163 (1933);
Ebhardt, Monatschr. Geburtsh., 79, 223 (1928); 81, 423 (1929);
Elsner-Behrend, Münch. med. Woch., 1929, 150;
Emery, Amer. J. Physiol., 105, 30 (1933);
Engel. Z. Krebsforsch., 34, 658 (1931);
Engelhardt, Arch. Gynäk., 148, 76 (1932);
Ernst, Dtsch. Z. Chir., 202, 231 (1927);
v. Euler, Arch. Skand., 11, 1 (1932); Bio. Z., 250, 1 (1932);
Evans, J. biolog. Chem. 77, 651 (1928); Amer. J. of Physiol., 99, 477 (1932); 77, 518 (1926); 96, 628 (1931); J. Med. Res., 3, 201 (1923);
Faust, Schweiz. med. Woch., 1925, 575; 1927, 368;
Fee-Parkes, J. Physiology, 67, 377 (1929); 70, 385 (1930); 68, 305 (1929);
Fellner, Zbl. Pathol., 23, 673 (1912); Zbl. Gynäk., 1924, 2846; Pflügers Arch., 189, 199 (1921): 231, 410 (1932); Kl. Woch., 1925, 1651; 1931, 1165; Med. Klinik, 1931, 1317; 1932, 1706;

Fels, Kl. Woch., 1926, 2349; 1927, 714; Arch. Gynäk., 138, 16 (1929); 141, 12 (1930); Med. Welt, 1933, 1283; Ber. D. Chem. Gesell., Jg. 67, 1270 (1934);
Firestone, Endocrinology, 12, 151 (1928);
Flössner, Arch., Gynäk. 135, 474 (1928);
Fevold-Hisaw-Meyer, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 27, 606 (1930); 29, 620 (1932); Amer. Soc., 54, 254 (1932);
Fischer, Z. physiol. Chem., 202, 83 (1931); Kl. Woch., 1932, 1266;
Foncin, Soc. Biol., 107, 1023 (1931);
Ford-Müller, Amer. J. Obstetr., 24, 329 (1932);
Fornero, Arch. ital. Biol., 71, 22 (1922);
Forster, Endokrinologie, 4, 260 (1929);
Frank и сотр., J. Amer. med. Assoc., 78, 181 (1922); 84, 1815 (1925); 85, 399 (1925); 86, 1686; 87, 554 (1926); 90, 106 (1928);
Frank и сотр., Amer. J. Physiol., 74, 395 (1925); 90, 727 (1929); Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 25, 476 (1928); 27, 476 (1929); 29, 1026, 1229 (1932); Verh. II Intern. Kongr. Sexual-Forsch., 1931, S. 378; Endocrinology, 10, 260 (1926);
Fraenkel и сотр., Arch. Gynäk., 68, 438 (1903); 91, 705 (1910); Dtsch. med. Woch., 1927, 2154; 1927, 2107; Z. exp. Med., 68, 172 , (1929); Verh. II Intern. Kongr. Sexual-Forsch., 1931, 467;
Fränkel-Fonda, Biochem. Z., 141, 379 (1933); 150, 149 (1924);
Fraser-Wiesner, Proceed. Roy. Soc. Edinburgh, 50, 1, (1930);
Frattini-Maino, Arch. Inst. Bioch. Ital., 2, 2 (1930); Bio. Z., 253, 202 (1932);
Frei, Virchows Arch., 271, 572 (1929); 275, 638 (1930);
Fremery, Arch. néerl. Physiol., 16, 290 (1931); Pflügers Arch., 231, 341 (1932);
Fernholz, Lieb. Annal., 507, 128, 215 (1934); Ber. D. Chem. Gesell. Jg., 67, 1855, 2021, 2027 (1934);
Freud, Proc. Roy. Soc. Amst., 32, 1054 (1929); Pflügers Arch., 225, 742 (1930); Arch. néerl. Physiol., 15, 473 (1930); Pflügers Arch., 228, 1 (1931); 229, 763 (1932); Nederl. Tijdskr. Geneeskunde, 1933, 1109;
Friedmann, Amer. J. Physiol., 89, 438; 93, 650; 95, 40; 97, 520; 98, 209 (1931);
Funk, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 26, 568 (1929); Biochem. J., 28, 1678 (1930); Amer. J. Physiol., 90, 353 (1929); 92, 440 (1930); J. biol. Chem., 92, 70 (1931);
Fussgänger, Med. u. Chemie, 1, 213 (1932); 2, 194 (1934);
Gans, Endocrinology, 11, 141 (1927);
Gardiner-Hill, Lancet, 220, 464 (1931);
Gee Mc., Amer. J. Physiol., 87, 406 (1928);
Gil, Endokrinologie, 6, 401 (1928);
Girard, C. R. Ac. Sc., 194, 909 (1932); 195, 523 (1932);
Gallagher-Koch-Moore, J. Pharm. exp. Ther., 40, 327 (1930);
Glaser-Hempel, Pflügers Arch., 229, 1 (1931);
Gley, Soc. Biol., 97, 119 (1927); 98, 504 (1928); J. Physiol. Pathol. gén., 26, 397; 27, 520; (1929);
Glimm-Wadehn, Bio. Z., 166, 155; 179, 3; 207, 361; 219, 155 (1930); 197, 442; 243, 97 (1931);
Goldstein-Tatelbaum, Amer. J. Physiol., 91, 14 (1929);
Goormaghtigh-Amerlink, Soc. Biol., 100, 439; 103, 527 (1930);
Goss-Cole, Endocrinology, 15, 214 (1931);
Gostimirovic, Soc. Biol., 49, 24 (1929); 50, 599 (1930); Kl. Woch., 1932, 2892; 1933, 486;
Graber, J. Amer. pharmac. Ass., 18, 677 (1929); Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 28, 977 (1931);
Greenwood-Creso, Proc. Roy. Soc. Edinburgh., 47, 190 (1927);
Goodman, цит. по Schröder:;

Greil, Zbl. Gynäkol., 1925, 995;
Günther-Winkler, Ibid., 1932, 1863;
Gustavson, J. biol. Chem., 92, 71 (1931);
Guthrie, J. exper. Med., 12, 269 (1910);
Gutman, Monatschr. Gynäk., 79, 433 (1928);
Guyénot, C. R. Ac. Sc., 194, 1051; (1931); Soc. Biol., 110, 895 (1932);
Halban, Arch. Gynäk 75, 353 (1905); Wien. med. Woch., 1928, 10;
Haberlandt, Münch. med. Woch., 1921, 1577; 1927, 49; 1930, 2064;
Pflügers Arch., 194, 235; 202, 1 (1924);
Handovsky, Pflügers Arch., 223, 221 (1929); Z. exp. Med., 89 (1933);
Hartman, Endocrinol., 10, 291 (1926); Amer. J. Obst., 19, 511 (1930);
Hartmann-Wettstein, Helv. Chim. Acta; 17, 878, 150 (1934);
Biochem. Z., 175, 46 (1926); Arch. Gynäk., 145, 757 (1931);
Harris-Newman, Science, 1931, 182;
Harrison, Biochemical J., 25, 1885 (1931); 27, 1152 (1933);
Hauptstein, Zbl. Gynäk., 1930, 4164; Endokrinol., 10, 321 (1932);
Heimann, Dtsch. med. Woch., 1925, 857 (19);
Heller, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 27, 751 (1930);
Hemmingsen, Skand. Arch. Physiol., 63, 87 (1931); 65, 97 (1933);
Herrmann, Wien. kl. Woch., 1916, 778; 1926, H. 7;
Heyl-Hart, J. biol. Chem., 72, 395; 75, 407 (1927);
Heymans, J. Physiol. Path. gén., 19, 323 (1921);
Heynemann, Dtsch. med. Woch., 1929, 643;
Hill, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 28, 866 (1931);
Hirsch, Kl. Woch., 1928, 313; Arch. Gynäk., 1931, 2146;
Hisaw, Proceed, exp. Biol. Med., 25, 754; 27, 606; 28, 604; 29, 620 (1932);
J. amer. Chem. Soc., 42, 3380; 54, 254 (1932); Amer. J. Physiol. 100,
111 (1932);
Hoche, Wechseljahre des Mannes, Berlin, 1928;
Hofbaker, Zbl. Gynäk., 1918, 745; 1924, 25; 1933, 2415;
Hohlweg и сотр., Kl. Woch., 1932, 321; 1934, 92; Pflügers Arch.,
232, 148 (1933); Z. exp. Med. 71, 762 (1930);
Hornung, Zbl. Gynäk., 1927,2971; 1929, 661;
Hunt, Endocrinology, 9, 479 (1925);
Janssen, Arch. f. exp. Path., 135, 1 (1928); 151 (1930); 159, 657 (1931);
163, 517 (1932);
Ihrke-d'Amour, J. Physiology, 96, 289 (1931);
Ito-Hayazu, Münch. med. Woch., 1933, 1969;
Jaffé, Zbl., Gynäk., 1924, 1122;
Janney-Walker, Endocrinology, 14, 101 (1930);
Jares, Amer. J. Physiol., 101, 545 (1932);
Johnson, Endocrinology, 16, 278 (1932);
Johnston, Amer. J. obstetr., 19, 167 (1930);
Jordan.-Thayer-Doisy, J. biol. Chem., 79, 53 (1928);
Jongh-De, Acta néerl. Physiol., 1, 35 (1931); 2, 119, (1932); 3, 10 (1933);
Endokrinologie, 11, 161, (1932);
Juhn, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 27, 1078 (1930);
Kabak, Endocrinologie, 9, 84, (1931); 10, 12 (1932);
Kahnt-Doisy, Ibid., 12, 760 (1928); (англ.).
Kallas, Virchows Arch., 273, 524 (1929);
Kamada, Mitt. Med. Akad. Kioto, 3, 6 (1929);
Kaufmann, Kl. Woch., 1927, 2228; 1931, 696; 1932, 14; 1934, 97; 1933,
1557; 1935, 117; Zbl. Gynäk., 1932, 1329, 2058;
Keller, Zbl. Gynäk., 1930, 641;
Kelly, Surg., 52, 713 (1931);
Kemp, Soc. Biol., 111, 326 (1932); Endokrinologie, 13, 256 (1933);
Kennedy, Quart. J. exp. Physiol., 20, 71 (1930);
Keussler, Zieglers Beitr., 67, 416 (1920);
King-King, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 24, 1060 (1932);

Klar, Dtsch. med. Woch., 1933, 1507;
Klein, Virchows Arch., 266, 357 (1927); Soc. Biol., 107, 112, 113,441 (1927);
Klussmann-Simola, Biochem. Z., 258, 194 (1933);
Knauer, Zbl. Gynäk., 20, 524 (1896);
Kochmann, Würzb. Abh., 5, 173 (1928);
Knaus, Arch. Gynäk., 138, 201; 140, 181; 141, 374 (1930); Arch. f. exp. Path., 151, 371 (1930);
Knell, Arch. Gynäk., 150, 176 (1932);
Knoche, Zbl. Gynäk., 1930, 849;
Kober, Arch. néerl. Physiol., 16, 266 (1931);
Koch, Am. J. Physiol., 90, 417 (1929); J. biol. chem., 104, 611;
Koch W., Klin. Woch., 1934, 141; Tierärztl. Rundsch., 1934, 89;
Kochmann, Arch. f. exp. Path., 137, 187; 143, 57; 152, 52 (1930);
Korenchevsky, Biochem., J., 22, 482; 26, 429; 26, 1306; 27, 778 (1933);
Kopsch, цит. по Schröder.
Kraul, Zbl. Gynäk., 1929, 2113;
Kriwsky, Bioch. Z., 249, 288 (1932);
Kudrjawzew, Z. exp. Med., 47, 568 (1925);
Kunde, Amer. J. Physiol., 95, 630; 97, 358 (1931);
Kurzrock, Endocrinology, 16, 336 (1932);
Küst, Dtsch. Tierarzt., 113, 286 (1933);
Laroche, Soc. Biol., 113, 286 (1933);
Laquer и сотр., Versl. K. Akad. Wet. Amsterdam, 34, 1270 (1925); Klin. Woch., 1927, 1382; 1930, 2344; 1928, 1851; Dtsch. med. Woch., 1926, 30; 1927, 866; 1932, 959; Bio. Z., 250, 448 (1932); Acta Néerl. Physiol., 3, 33 (1933); 2, 9 (1932); 4, 117 (1934);
Lasch, Z. exp. Med., 81, 314 (1932);
Lataste, Soc. Biol., 44, 765 (1892);
Lawles, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 29, 232 (1931);
Lee, Amer. J. Physiol., 78, 246 (1926); 86, 694 (1928);
Leites, Z. exp. Med., 62, 717 (1928);
Leonard, Endocrinology, 15, 17 (1931);
Lespinasse, J. Amer. med. Assoc., 59, 1869 (1913);
Leydolph, Z. mikr. Anat., 19, 285 (1930);
Лихачев, Z. exper. Med., 52, 418 (1926);
Lipschütz, Soc. Biol., 86, 238; 90, 1139; 91, 233; 94, 731; 97, 564; 100, 984; 108, 148; 112, 1272; 102, 623; 108, 754; 109, 92; 111, 1350 (1933); Virchows Arch., 285, 35; 272, 245; 276, 676; 277, 694 (1932); Pflügers Arch., 207, 548; 208; 272; 211, 266; 221, 439 (1929); Biochem. Z., 215, 222 (1929); 220, 453 (1930);
Loeb-Kountz, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 24, 728 (1927); Amer. J. Physiol., 83, 202; 84, 283 (1928);
Loewe, Klin. Woch., 1926, 310; 1925, 1407; 1928, 1376; 1931, 1407;1930, 481; 1932, 1149; Bioch. Z., 180, 1; 221, 461; 251, 246; 237, 214; 249, 443; 250, 50 (1932);
Lode, цит. по Schröder.
Loewenstein-Schwarz, Wien. Arch. inner. Med., 15, 95 (1928);
Loewy-Richter, Berl. kl. Woch., 1899, N 50; Dtsch. med. Woch., 1921;
Lejwa, Biochem. Z., 256, 236 (1932);
Long-Evans, Mem. Univ. California, 6, 98 (1922);
Loewy, Erg. Physiologie, 2, 130 (1903);
Lipschütz, Abderhald. Handb. biol. Arbeitsmeth. Abt. 5, T. 3 B., H. 3, S. 357;
Ludwig-Reis, Schweiz. med. Woch., 1932, 401;
Maatz, Zbl. Pathol., 59, 243 (1934);
Macht. J. Urol., 4, 115 (1920); Amer. J. Physiol, 93, 801;
Maddux, Proc. Soc. exp. Biol. Med., 27, 873 (1930);

Mahnert, Zbl. Gynäk., 1927, 1626;
Maino, Arch. Inst. Bioch. Ital., 1, 95, 1929; 2, 495; 4, 347; 5, 99 (1 933)
Mandelstamm-Tschaikowsky, Zbl. Gynäk., 1932, 2346;
Mansfeld, Wien. kl. Woch., 1932, 1378;
Manzi, Boll. Soc. ital. Biol. sper., 7, 642 (1932);
Marx, Erg. Physiol., 35, 342, (1933);
Marie, Revue méd. Paris, 6, 297 (1886);
Marrian, Biochem. J., 23, 1090; 24, 435; 26, 25; 27, 311 (1933); J. Soc. chem. Ind., 50, 368, (1930); Nature, 1930, 90; Science, 1931, 547; Z. physiol. Chem., 200, 277 (1931); J. Physiology, 78, 19; 79, 301 (1933); Nature, 1933, 102;
Marshall, Quart. J. exp. Physiol., 17, 205 (1927);
Martin, Klin, Woch., 1931, 1411;
Martins, Soc. Biol., 102, 480; 105, 107 (1930);
Mason, Amer. J. Anatomie, 52, 153 (1933);
Massazza, Folia Gynäk., 29. 239 (1932);
Melchior-Nathmann, Mitt. Grenzg. Med. Chir., 34, 612 (1922);
Meyer, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 29, 301 (1931);
Meyer, Robert, Zbl. Gynäk., 1920, 473; 1924, 1570; 1927, 1690; 1932;
Michalowsky, Virchows Archiv, 279, 384 (1930);
Михалкович, цит. по Kopsch.
Migge, Dermat., Z., 56, 110 (1929)
Minkowsky, Berl. kl. Woch., 1887, 371;
Mirwish-Bosman, Quart. J. exp. Physiol., 18, 11 (1927);
Möhle, Zbl. Gynäkol., 1933, 391;
Moll, Arch. f. exp. Path., 170, 176, (1933);
Molteni, Fol. Haematol., 10, 517 (1929);
Moore, Amer. J. Physiol., 87, 436; 89, 388; 96, 278 (1933); J. biol.Chem., 84, 495; 100, 47, 48 (1933);
Mori-Reiss, Endokrinology, 1, 418 (1928);
Morell, Endocrinology, 14, 25 (1930); Proc. Soc. exp. Biol., 26, 269;
Moser, Z. Geburtsh., 93, 708 (1928);
Mühlbock-Kaufmann, Z. exp. Med., 85, 272 (1932);
Mühsam, Dtsch. med. Woch., 1920, 823;
Münch, Arch, néeerl. Physiol., 16, 265 (1931);
Muto-Chuji, Endocrinology, 1, 79 (1921);
Myers, J. Pharmac., 41, 317; 48, 283 (1933);
Nakamura, Transact. Jap. Path. Gesell., 19, 85 (1929);
Nelson, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 26, 659; 27, 863 (1930);
Neumann, Zbl. Gynäk., 1931, 1639; 1932, 391;
Nibler.-Turner, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 26, 882 (1929)
Николаев, Z. exp. Med., 57, 214 (1927);
Offergeld, Virchows Arch., 283, 159 (1932);
Orent-McCollum, J. biol. Chem., 98, 101 (1932);
Oslund, Amer. J. Physiol., 76, 222; 77, 76 (1926);
Padoa, Boll. Soc. ital. Biol. sper., 6, 367 (1931);
Papanicolau, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 22, 106; 28, 807 (1931);
Partron, Soc. Biol., 103, 453; 104, 218; 105, 117; 111, 117 (1932);
Parkes, Internal. Secr. Ovary, London, 1929 (там же литер.)
Pezard, Erg. Physiol., 27, 552 (1928);
Payne, Amer, J. Physiol., 85, 398 (1928);
Payr, Zbl. Chir., 47, 1130 (1920);
Pedersen-Bjergaard, Soc. Biol., 112, 103 (1933);
Penharz-Long, Amer. J. Anat., 50, 1 (1932).
Peracchia, Arch. ital. Chir., 21, 686 (1928);
Peritz, Endokrinologie, 9, 355, (1931);
Petit-Dutailis, Gynécologie, 24, 637 (1930);
Picard, Dtch. med. Woch., 1929, 778;
Pincus, Anat. Rec., 49, 97 (1931);

Plaut, Z. physiol., Chem., 111, 36 (1920); Kl. Woch. 1924
Plato, цит. по Kraus (Verh. D. Path. Gesell., 1928);
Pick-Reiss, Endokrinologie, 12, 161 (1933);
Pighini, Ibid, 15, 195 (1935);
Pompen, Nederl. Tijdskr. Geneeskunde, 1933, 603;
Powers, Endocrinology, 13, 395 (1929);
Pribam, Z. Krebsforsch., 34, 545 (1931);
Ptaszeck, Soc. Biol., 99, 929; 100, 1250; 113, 1304 (1933);
Pulay, Med. Welt, 1932, 307;
Ralls, J. biol. Chem., 67, 5; 69, 357 (1926);
Rathery, Soc. Biol., 99, 529 (1928);
Da-Re, Arch. di Fisiol., 26, 243 (1928);
Redenz, Pflügers Arch., 216, 605 (1927);
Ремезов, «Химия холестерина», И-во ВИЭМ, 1934; «Химич. факторы роста», И-во ВИЭМ, (в печати); А. биол. наук., 1935;
Reiche, Z. Kinderheilk., 49, 202 (1930);
Reifrich, Arch. Gynäk., 136, 417; 141, 27 (1930);
Reiss-Marx, Endokrinologie, 1, 181, 411 (1928);
Retterrer, J. d'Urolog., 23, 102 (1927); Soc. Biol., 84, 105;
Rijlant, Traveaux de l'Inst. Solvay Bruxelles, vol. XVIII, XX, XXI.
Riccitelli, Endocrinologia, 7, 580 (1932); 12, 23 (1931);
Reynolds, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 90, 1165; 94, 699; 102, 39; 104;
Richter-Wislocki, Amer. J. Physiol., 86, 651 (1928);
Riddle, Endocrinology, 13, 311 (1929); Proceed Soc. exp. Biol. Med., 29, 1213 (1932);
Robertson, Endocrinology, 14, 77 (1930);
Romeis, Kl. Woch., 1933, 1640;
Rocha e Silva, Rev. Soc. argent. Biol., 9 (1932);
Rosenfeld, Amer. J. Physiol., 93, 684; 99, 552 (1932);
Rosenthal, Proceed. Soc. exp. Biol. Med., 30, 1150 (1933);
Rowe, Endocrinology, 15, 481 (1931);
Ruzicka, Helv. Chim. Acta, 17, 1389 (1934);
Saiki, Amer. J. Physiol., 100, 8 (1932);
Sakamoto, Folia endocr. japon., 2, 847; 3, 266 (1927)
Sampson, Bioch. J., 26, 1322 (1932);
Sand, Pflügers Arch., 173, 1 (1919);
Sandulesco, C. R. Ac. Sc., 196, 137 (1932);
Scaglione, Riv. ital. Ginec., 3, 819; 9, 463 (1929);
Шкавера и Сентюрин, Z. exp. Med., 44, 748 (1925);
Schmidt, Z. Geburtsh., 103, 47 (1932);
Schröder, Z. Geburtsh., 83, 764 (1921);
Schultze, Zbl. Gynäk., 1931, 3042;
Schwenk-Hildebrandt, Bio. Z., 259, 240 (1933);
Schoeller-Goebel, Bio.Z., 240, 1; 251, 223 (1932);
Schrire-Zwarenstein, Biochem. J., 26, 1886 (1932);
Schwerdtfeger, Arch. f. exp. Path., 163, 487 (1931);
Seitz, Münch. med. Woch., 1914, 1657; 1930, 133; 1931, 861;
Seyderhelm., Dtsch. med. Woch., 1930, 860; Z. exp. Med., 66, 557;
Sherwood, Amer. J. Physiol., 105, 241 (1933);
Siddall, J. Amer. med. Ass., 90, 380; 91, 779 (1928);
Siebke, Zbl. Gynäk., 1929, 2450; 1930, 1601;
Siegert, Zbl. Gynäk., 1930, 1630; 1931, 2684;
Siegmund, Arch. Gynäk., 1930, 1630; 1931, 2684;
Silberstein, Z. Krebsforsch., 35, 420 (1932);
Simmonnet, Ann. de Physiol., 3, 586 (1927);
Sippel. Arch. Gynäk., 118, 445, (1923);
Skinner, Amer. J. Physiol., 101, 591 (1932);
Slonaker, Amer, J. Physiol., 81, 325; 93, 307 (1930);

Slotta-Ruschig-Fels, Ber., 67, 1270, 1624, 1949 (1934); Helv. Chim. Acta, 17, 1363 (1934); Hoppe-Seyl. Z., 228 (1934);
Smith-Engle, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 29, 1225 (1932); Bull. Johns Hopkins Hosp., 39, 23 (1926);
de-Snoo, Zbl. Gynäk., 1928, 2703;
Sommer, Ibid., 1931, 2703;
Spencer, Amer. J. Anat., 50, 129 (1932);
Spiegler, Dtsch. med. Woch., 1933, 1726;
Сентюрин, Z. exp. Med., 48, 712, (1926);
Stammler-Djatlowa, Klin. Woch., 1932, 722;
Stanley, Endocrinology, 6, 787; 15, 55 (1931);
Stark, Zbl. Gynäk., 1930, 2964;
Slotopolsky, Erg. Chir., 21, 104 (1928);
Stieve, Naturwiss., 15, 951 (1927);
Störmer-Westphal, Erg. Physiol., 35, 318 (1933);
Stein-Herrmann, Arch. Entwickl., 48, 447 (1921);
Steinach, Pflüg. Arch., 129, 306 (1928); 210, 598; 227, 216 (1931); Verjungung usw., Berlin, (1920);
Stemmer, Klinik d. weibl. Sexualhormone (1933), Stuttgart;
Stern, Arch. f. exp. Path., 166, 395 (1932);
Stockard-Papanicolau, Amer. J. Anat., 22, 225 (1917);
Sure, J. biol. Chem., 58, 681; 62, 331; 69, 53 (1926);
Swett-Thorp, Amer. J. Physiol., 89, 50 (1929);
Squibb, Amer. J. Obstetr., 29, 113 (1935);
Szarka, Pflügers Arch., 222, 690 (1929);
Thayr, J. biol. Chem., 69, 357; 79, 53 (1928);
Tandler-Gross, Цит. по Kraus:
Toepper-Perkuhn, Kastration d. männl. Haustiere (1926);
Trendelenburg, Arch. f. exp. Path., 137, 201 (1928);
Tsubura, Bioch. Z., 143, 291 (1923);
Turner, Science, 1931, 295; Anat. Rec., 53 (1932);
Tschermak, Proc. Soc. exp. Biol., 38, 116 1932;
Tschopp, Цит. по Ruzicka;
Tscherning, Erg. Physiol., 35, 318 (1933); Wien. kl. Woch., 1934, 30;
Tschesche, Ber. Jg., 66, 1770 (1933); Jg. 67, 1910 (1934);
Theel, Amer. J. Physiol., 79, 170; 89, 862 (1929);
Tavastyerna, J. biol. chem. (1935); Арх. биол. наук (1935);
Uhlmann, Z. exp. Med., 55, 487 (1927);
Urbach, Dermat. Woch., 1929, 690;
Vara-Lopez-Thorbeck, Z. exp. Med., 44, 240 (1924);
Veer, Ibid., 80, 562 (1932);
Veler-Doisy, Proceed Soc. exp. Biol Med.., 25, 806 (1928);
Verda, Endocrinology, 13, 46 (1929);
Verzar d'Arvay, Biochem. Z., 240, 28 (1931);
Vintemberger, Arch. Biol., 35, 125 (1925);
Vogt, Arch. f. exp. Path., 170, 72 (1933);
Voronoff, Hodeneinpflanzung, Leipzig, 1925;
Voss-Loewe, Pflügers Arch., 216, 256; 226, 138 (1930);
Wadehn, Endocrinology, 12, 241 (1933);
v. Wagenen, Amer. J. Physiol., 84, 461; 105, 473; 106, 466 (1933);
Wagner, Zbl. Gynäk., 1927, 1304; D. med. Woch., 1932, 966;
Walker, Bull. Johns Hopkins Hosp., 11 (1900);
Wang-Guttmacher, Amer. J. Physiol., 82, 335 (1927);
Weichert, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 25, 490 (1928);
Weil, Pflügers Arch., 185, 33 (1920);
Werner, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 29, 1142 (1932);
Weygand, Acta obstetr. Scand., 10, 420 (1930);
Whitehead.-Huddleston., J. Pharmac., 42, 197 (1931);
Wieland, Z. physiol. Chem., 186, 97 (1929);

Windaus, Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem., 213, 148 (1932);
Windaus-Dalmer, Ber., 39, 2010 (1906); 50, 133 (1917);
Windaus-Tschesche, Ber., 65, 1842 (1932); Z. physiol. Chem., 190,52;
Windaus, Nachr. Gesell. Wiss .Göttingen, 111, 92 (1933);
Wiesner, Quart. J. exp. Physiol., 20, 273 (1930);
Wildebush-Mc Clendon, Proceed Soc. exp. Biol., 27, 125 (1929);
Wiles, Ibid., 26, 785 (1929);
Wilhelm, Soc. Biol., 99, 1199 (1928);
Williams, Brit. med. J., 1922, 833;
Winter, Arch. Gynäk., 141, 548; 150, 602 (1932);
Wintz, Dtsch. med. Woch., 1924, 67;
Witterspoon, Proceed Soc. exp. Med. Biol., 29, 1063 (1932);
Wöhling. Dtsch. med. Woch., 1932, 2034;
Wolfe, Proceed Soc. exp. Biol. Med., 27, 33 (1930);
Womack-Koch., Endocrinology, 16, 273 (1932);
Wrede, Z. physiol. Chem., 131, 29; 138, 112; 153, 291; 163, 219 (1927);
Wunder, Arch. Zool. Ital., 16, 841 (1932);
Waldeyer, Handb. norm. Anat. Rauber., Bd. IV, (1930);
Yamashita, Fol. endocrin. japon., 4, 229 (1928);
Zamkof-Rokhlina, Soc. Biol., 102, 1003 (1929);
Zimmermann, Arch. Gynäk., 134, 328 (1926);
Завадовский, Endokrinologie, 5, 363 (1929);
Zondek, Hormone d. Ovariums u. d. Hypophysenvorderlappen, 11 Aufl.;
Zuckermann, Brit. med. J., 1932, 1093;
Zunz, Soc. Biol., 103, 795; 104, 795 (1930);

Технический редактор Н. В. Дудуев

Ответств. за выпуск в типогр. С. Соловьев, формат бумаги 62×94/16, печ. листов 16, печ. зн. в листе 32 016, авторск. листов 12 4/5
Сдано в тип. 15/X—35 г. Подписано к печати 9/III—36 г.
Уполном. Главлита Б-20070 Зак. № 1985. Тираж 42 00.
Цена книги 5 р. 80 80 к., переплет 1 р. 20 к.

7-я тип. «Искра Революции», Мособлполиграфа, Арбат, Филипповск., 13.

m., 213, 148 (1932);
6); 50, 133 (1917);
1932); Z. physiol. Chem.
n, 111, 92 (1933);
(1930);
oc. exp. Biol., 27, 12

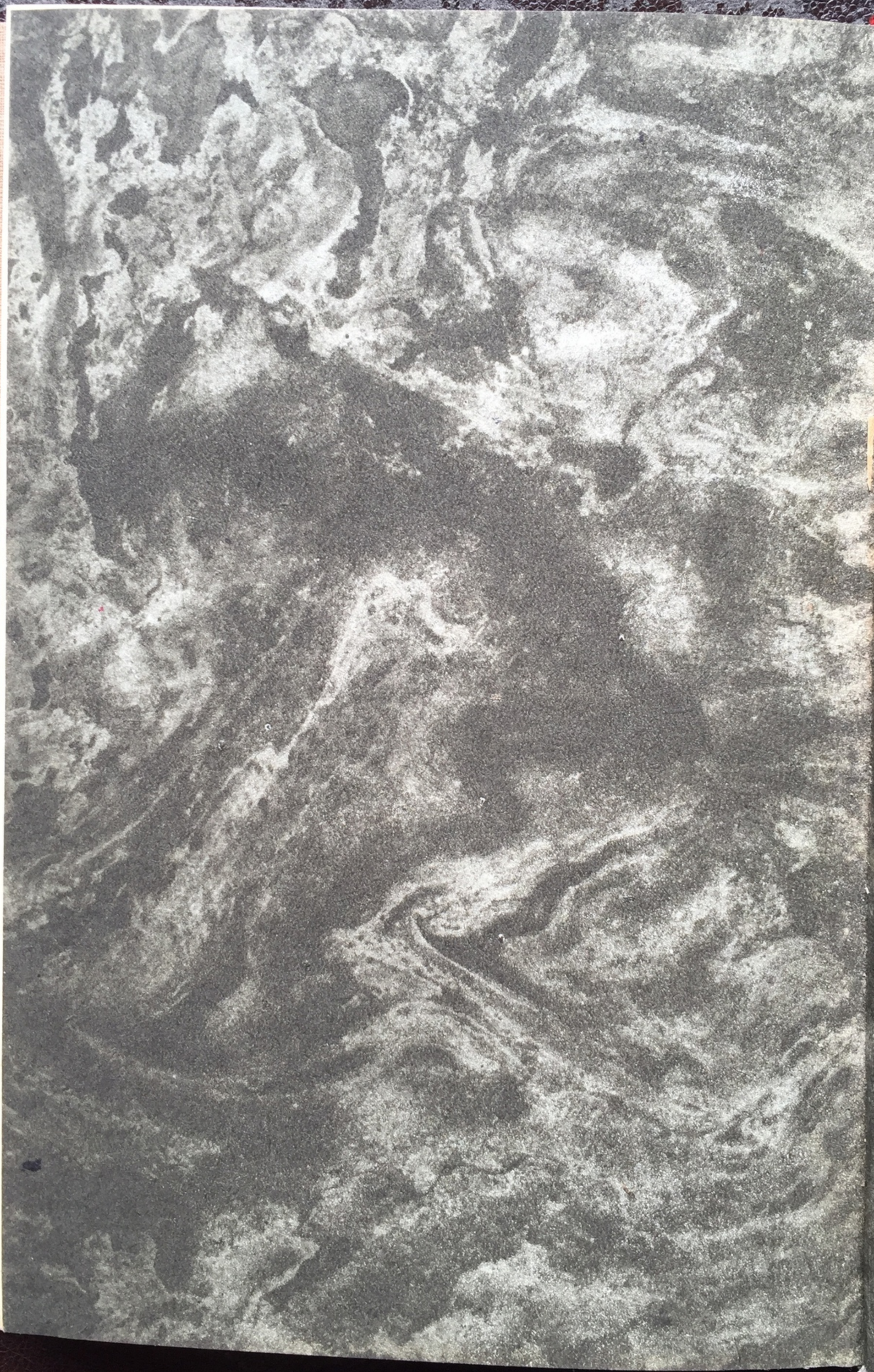
1932);

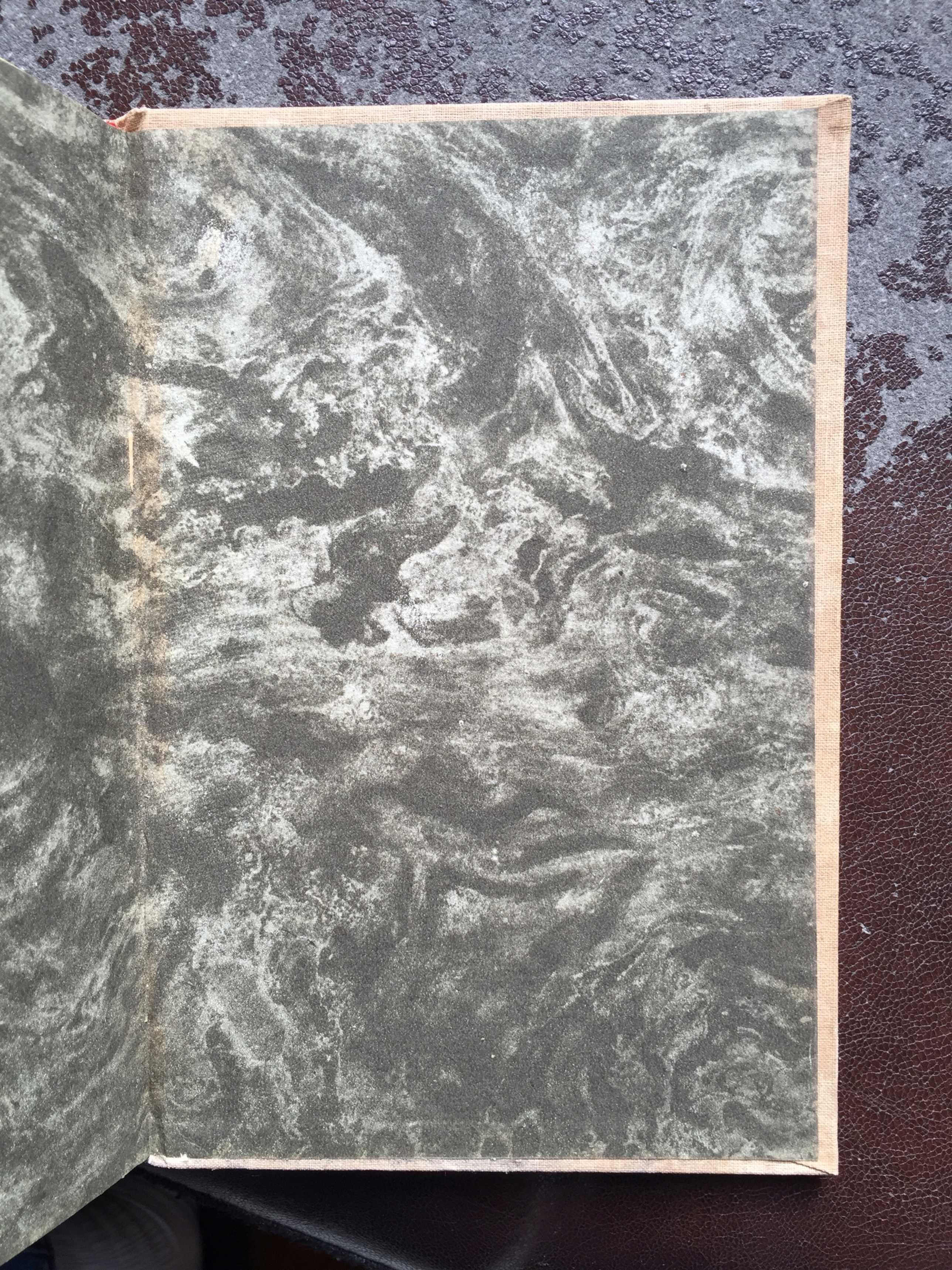
ol., 29, 1063 (1932);

(1930);
1932);
153, 291; 163, 219 (192

d. IV, (1930);
928);
929);
26);
9);
senvorderlappen, 11 Aufl.

формат бумаги 62×94/
листов 124/5
но к печати 9/III—36 г.
Тираж 42
б.
ет 1 р. 20 к.
Арбат, Филипповск.





UNIVERSITY

ХИМИЯ и БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ ПОЛА